

SÉRIE A, N° 98

N° D'ORDRE

118

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

POUR OBTENIR

LE TITRE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ

PAR

J. RIPERT

LICENCIÉ ÈS SCIENCES

1^{re} THÈSE. — SUR LA VARIATION ET LE RÔLE DES ALCALOÏDES
DE LA BELLADONE.

2^{me} THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le 9 Novembre 1922, devant la Commission d'Examen

MM. G. BONNIER, *Président.*

HÉROUARD, }
BLAISE, } *Examineurs.*

RENNES

IMPRIMERIE OBERTHÜR

—
1922

SÉRIE A, N° 98

N° D'ORDRE

118

THÈSES

PRÉSENTÉES

À LA FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

POUR OBTENIR

LE TITRE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ

PAR

J. RIPERT

LICENCIÉ ÈS SCIENCES

1^{re} THÈSE. — SUR LA VARIATION ET LE RÔLE DES ALCALOÏDES
DE LA BELLADONE.

2^{me} THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le 21 Novembre 1922, devant la Commission d'Examen

MM. G. BONNIER, *Président.*

HÉROUARD, }
BLAISE, } *Examineurs.*



RENNES
IMPRIMERIE OBERTHÜR

1922

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

MM.

Doyen..... MOLLIARD, *Professeur*. Physiologie végétale.

Doyen honoraire..... P. APPELL.

Professeurs honoraires..... { P. PUISEUX.
VÉLAIN.
BOUSSINESQ.
BOUTY.

<i>Professeurs</i>	Emile PICARD.....	Analyse supérieure et algèbre supérieure.
	Gaston BONNIER.....	Botanique.
	KœNIGS.....	Mécanique physique et expérimentale.
	GOURSAT.....	Calcul différentiel et calcul intégral.
	HALLER.....	Chimie organique.
	JOANNIS.....	Chimie (Enseignement P. C. N.).
	JANET.....	Electrotechnique générale.
	WALLERANT.....	Minéralogie.
	ANDOYER.....	Astronomie.
	PAINLEVÉ.....	Mécanique analytique et mécanique céleste.
	HAUG.....	Géologie.
	H. LE CHATELIER.....	Chimie générale.
	Gabriel BERTRAND.....	Chimie biologique.
	Mme P. CURIE.....	Physique générale et radioactivité.
	CAULLERY.....	Zoologie (Evolution des êtres organisés).
	C. CHABRIÉ.....	Chimie appliquée.
	G. URBAIN.....	Chimie minérale.
	Emile BOREL.....	Calcul des probabilités et Physique mathém.
	MARCHIS.....	Aviation.
	Jean PERRIN.....	Chimie physique.
	G. PRUVOT.....	Anatomie et physiologie comparées.
	ABRAHAM.....	Physique.
	CARTAN.....	Mécanique rationnelle.
	Cl. GUICHARD.....	Géométrie supérieure.
	LAPICQUE.....	Physiologie.
	GENTIL.....	Géographie physique.
	VESSIOT.....	Théorie des groupes et calcul des variations.
	COTTON.....	Physique générale.
	DRACH.....	Application de l'analyse à la géométrie.
	C. FABRY.....	Physique.
	Charles PÉREZ.....	Zoologie.
	Léon BERTRAND.....	Géologie appliquée et géologie régionale.
	DANGEARD.....	Botanique (Enseignement P. C. N.).
LESPIEAU.....	Théories chimiques.	
LEDUC.....	Physique théorique et physique céleste.	
MONTEL.....	Mathématiques générales.	
MAURAIN.....	Physique du globe.	
HÉROUARD.....	Zoologie.	
Rémy PERRIER.....	Zoologie (Enseignement P. C. N.).	
SAGNAC.....	Physique théorique et physique céleste.	
RABAUD.....	Biologie expérimentale.	
PORTIER.....	Physiologie.	
BLAISE.....	Chimie organique.	
PÉCHARD.....	Chimie (Enseignement P. C. N.).	
AUGER.....	Chimie analytique.	
M. GUICHARD.....	Chimie minérale.	
GUILLET.....	Physique.	

Secrétaire..... Daniel TOMBECK.

A Monsieur GASTON BONNIER

MEMBRE DE L'INSTITUT, PROFESSEUR A LA SORBONNE

Hommage respectueux.

A Monsieur LUCIEN DANIEL

PROFESSEUR DE BOTANIQUE APPLIQUÉE A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE RENNES

Hommage respectueux de ma vive gratitude.

INTRODUCTION

La culture des plantes médicinales et l'amélioration de leurs rendements en principes actifs a pris, dans ces dernières années, un développement considérable sous l'active impulsion de l'Office National des Matières premières pour la droguerie, la pharmacie, la distillerie et la parfumerie, Office dirigé par M. le professeur Perrot.

Sur les conseils de mon maître, M. le professeur Daniel, j'ai entrepris des recherches sur la biologie de la Belladone, sur ses alcaloïdes et leur rôle, ainsi que sur les procédés susceptibles de faire varier le pourcentage de ces substances. Non seulement il a bien voulu m'accorder l'hospitalité la plus bienveillante à son laboratoire et me fournir les matériaux de travail, mais encore il n'a jamais cessé de m'encourager dans mes recherches et de s'intéresser à mes travaux. Je le prie d'agréer ici l'hommage de ma vive reconnaissance.

Peut-être trouvera-t-on que, dans le présent travail, j'ai sacrifié la partie purement pratique aux recherches théoriques. Il n'en est rien cependant, car toute culture, et en particulier celle de la Belladone, pour être rémunératrice, doit s'appuyer sur la biologie de la plante et la connaissance des variations de ses produits utilitaires sous l'action des changements de milieu.

A ce titre, j'espère que mes recherches, même celles qui paraissent abstraites au premier abord, ne seront pas inutiles à ceux qui cultivent les plantes à alcaloïdes.

HISTORIQUE

Déjà connue au Moyen-Age pour ses nombreuses propriétés et sa haute toxicité, la Belladone a donné lieu à de nombreuses recherches quant aux poisons qu'elle contient, à l'extraction de ceux-ci et à leur variation avec le milieu cultural. Des études approfondies ont été faites sur les alcaloïdes en général, mais jusqu'ici aucun travail d'ensemble n'a été tenté sur la Belladone seulement. Sa biologie et sa physiologie assez spéciales ont attiré pourtant l'attention de bon nombre de chercheurs, mais aucun ne s'est spécialisé dans son étude particulière.

Nous trouvons déjà des documents, sur ses propriétés nocives, dans les livres médiévaux traitant de l'art de soigner avec les simples (planche I); mais ici aucun fait n'est digne de retenir notre attention. D'ailleurs nous ne nous arrêterons pas sur l'historique de son emploi progressif dans la pharmacopée; nous signalerons seulement à titre documentaire les ouvrages fort intéressants de toxicologie où nous avons puisé des notions importantes quant aux propriétés chimiques et physiologiques des alcaloïdes, leur extraction et surtout leurs caractères propres : nous avons surtout utilisé ces documents dans

la seconde partie de notre travail relative à l'étude de la greffe de ces plantes. Le traité de toxicologie de M. BARTHE (1) nous a servi bien souvent; par sa grande netteté et son étude par familles des poisons végétaux, il nous a rendu d'utiles services de même que celui de M. OGIER (2).

La bibliographie est considérable quant aux divers procédés employés dans l'extraction des corps actifs de la Belladone; M. BEAUSITE (3) a tenté, dans sa thèse, d'inaugurer un procédé général qui permettrait l'unification des procédés d'extraction dans tous les pays, ceci rendant comparables les chiffres d'analyses obtenus en France et à l'étranger. Jusqu'ici l'on ne peut comparer les rendements anglais ou allemands, ces résultats pouvant déjà différer suivant le mode d'analyse. M. BEAUSITE, dans ce travail documenté, fait un historique de ces procédés; cette étude chimique ne cadre pas avec l'idée générale de notre travail et nous n'entrerons pas dans un examen approfondi de ses conclusions. Il termine par quelques aperçus sur l'influence des engrais et des facteurs biologiques; nous reviendrons ultérieurement sur ce point.

Nous pourrions relever ici de nombreuses études purement théoriques sur les alcaloïdes de la Belladone, quant à leur composition et leur structure chimique, ou bien sur les essais de formation de ces corps par synthèse; mais les méthodes employées étant tellement éloignées de celles que l'usine végétale peut fournir que nous ne les examinerons pas, ne pouvant en tirer que

peu de profit. Pourtant nous ne pouvons passer sous silence les recherches de PICTET (4), puis de CIAMICIAN et RAVENA (5) dont nous reparlerons plus loin; la synthèse de l'atropine par la méthode de WINSTERSTEIN (6), étant une des plus belles de la chimie organique, doit être également signalée.

Depuis bientôt un demi-siècle, on cultive la Belladone dans le but de l'extraction industrielle de ses alcaloïdes; de bonne heure s'est posée la question du mode de culture pour un rendement alcaloïdique maximum, et nous trouvons dès lors des études générales quant à la biologie de ces corps. Pendant longtemps on crut que les Belladones sauvages avaient une teneur plus forte en principes actifs que les plantes cultivées : c'est ainsi que GERRARD (7), dans un tableau comparatif, montre cette baisse de la plante cultivée. Mais les essais nombreux faits ces dernières années dans diverses exploitations agricoles de plantes médicinales montrent au contraire le rôle bien-faisant des engrais.

M. CHEVALIER (8) a prouvé nettement l'action favorisante des engrais azotés. De même MM. RANSON et HENDERSON (9) en Angleterre ont publié des résultats analogues. M. GORIS (10) a constaté une augmentation des alcaloïdes sous l'influence d'engrais variés, et démontré que tous les engrais ont un effet améliorant, alors que M. CHEVALIER semblait admettre seulement le rôle des amendements azotés : M. BEAUSITE (11) vérifia dernièrement ces expériences et conclut dans le même sens que M. GORIS.

Des Solanées très voisines, telles le *Datura Stramonium* et les différentes espèces de Jusquiames ont donné lieu aux mêmes essais; nous ne citerons que ceux de M. CHEVALIER (12) à titre de mémoire.

L'examen des facteurs météorologiques présidant à la culture de ces plantes a intéressé divers expérimentateurs. MM. RANSON et HENDERSON (13) ont étudié l'influence amélioratrice causée par une insolation intense et une sécheresse relative; M. DUNSTAN (14) a trouvé que l'*Hyoscyamus* d'Egypte renferme plus d'alcaloïdes que celui de l'Inde. M. UNGER (15) a constaté une élévation alcaloïdique chez les Belladones poussées au soleil en comparaison de celles développées à l'ombre.

Une étude déjà plus méthodique a été tentée par MM. VREVEN et SCHREIBER (16) qui, dans des vases de culture, ont essayé le rôle de différents sels nutritifs : M. BEAUSITE a repris leurs expériences en grand et a conclu d'une manière semblable. Mais de toutes ces expériences nous ne pouvions rien tirer quant au rôle des alcaloïdes et à leur physiologie dans la plante; le mode d'action des engrais encore inconnu nous entraînerait loin, surtout si l'on s'en rapporte à l'opinion de A. SIEVERS (17) : « Il n'y a, dit cet auteur, aucune corrélation entre l'apparence physique de la plante et la quantité des alcaloïdes contenus dans les feuilles; une croissance luxuriante n'est pas un signe certain de la valeur médicale de ces dernières ». De même, selon M. MILLER (18), les améliorations dues à la culture seraient obtenues par le changement de milieu et la suppression des espèces

végétales concurrentes dans le voisinage bien plus qu'à une méthode rationnelle de culture.

Nous examinerons maintenant une série d'ouvrages d'un ordre plus spécialisé, traitant surtout de la variation des alcaloïdes dans la plante au cours de la végétation normale; ils sont nombreux quant au groupe des alcaloïdes en général; ils sont au contraire réduits pour ceux des Solanées. FELDHAUS (19) étudiant la teneur comparée des différents organes du *Datura Stramonium* a déduit qu'elle est maximum au moment de la floraison, c'est-à-dire pendant le stade d'activité vitale le plus élevé : ses analyses portent sur une génération partant de la germination de la graine pour arriver au fruit de l'année suivante. MM. CHUARD et MELLET (20) ont conclu de même dans des recherches sur le Tabac. CLAUTRIAU (21), dans une étude approfondie sur le rôle biologique des alcaloïdes du Café, Thé, Pavot, a serré de très près le problème et jeté les premières bases certaines quant à leur physiologie; ses expériences et les déductions qu'il en a tirées sont un véritable guide pour quiconque veut aborder à nouveau le problème; notre étude sur les Belladones a souvent été inspirée par ses recherches. Il a supposé que les alcaloïdes seraient des déchets provisoires provenant de la désassimilation des matières albuminoïdes.

M. HENDERSON (22) puis M. LAURENT (23) pensèrent pouvoir tirer quelques renseignements de l'examen de la racine de la Belladone, mais devant l'invariabilité de sa teneur en alcaloïdes ils ne purent rien conclure. Par

contre l'étude de la germination de différentes graines fut féconde en renseignements divers quant à la biologie des alcaloïdes. MM. HECKEL (24) et GAUCHER (25), puis M. BARTHE (26), constatant la disparition de la caféïne au cours de la germination des graines de café, supposèrent qu'elle est utilisée lors de la germination; mais CLAUTRIAU démontra que si le pourcentage ramené au poids de matière sèche n'augmente pas toujours, il reste invariable. En s'appuyant sur les expériences de M. TUNMANN (27) et de M. FELDHAUS, on peut généraliser le fait en l'étendant à différentes Solanées et à d'autres plantes à alcaloïdes.

La greffe, permettant en certains cas d'introduire dans une plante par un parasitisme forcé des produits nouveaux que sa physiologie était incapable de former, tenta quelques expérimentateurs désireux de savoir comment se comportaient les alcaloïdes, au niveau du bourrelet, c'est-à-dire s'ils étaient entraînés comme matières plastiques dans l'hypobiote (sujet) ou l'épibiote (greffon) suivant les cas.

STRASBURGER (28), ayant étudié des greffes de *Datura Stramonium* sur *Solanum tuberosum*, constata un léger passage d'atropine dans les tubercules de la Pomme de terre. M. LEWIN (29) qui avait analysé des Pommes de terre provenant de greffes de différentes Solanées, greffes faites par M. LINDEMUTH, fut dans l'impossibilité d'y déceler des traces d'alcaloïdes; MM. LINSBAUER et GRAFE (30) montrèrent par des greffes de *Nicotiana affinis* sur *Nicotiana tabacum* que l'aptitude du sujet à former de la

nicotine est accrue sous l'influence d'un greffon riche en nicotine. MM. MEYER et SCHMIDT (31), après des essais infructueux en 1907, prouvèrent en 1910 que les alcaloïdes du *Datura* et du Tabac peuvent descendre dans les tubercules de Pomme de terre en passant par le bourrelet; M. Charles LAURENT (32), dans sa thèse, mit en évidence le passage de l'atropine dans diverses greffes; M. JAVILLIER (33), contrôlant ces expériences, arriva à des résultats analogues et compléta dans une certaine mesure les expériences de M. LAURENT.

Dans un autre ordre d'idées, nous citerons les recherches très anciennes quant au rôle des alcaloïdes comme aliment qu'on essaya d'incorporer aux substances minérales nutritives de la plante pour savoir s'ils étaient absorbés et assimilés; leur toxicité relative chez les végétaux des divers familles fut longuement étudiée. En 1825, MARCET (34) examina l'action d'extrait de différentes plantes toxiques, entre autres de la Belladone sur de jeunes plantes de Haricots; il constata une mort assez rapide.

PRINCEPS (35) essaya l'action des poisons sur les plantes qui les produisent; il plongea des branches de *Datura*, *Hyoscyamus* et autres dans des solutions d'extrait de ces plantes; la mort fut toujours rapide. GOËPPERT (36) prouva que l'atropine n'a aucune action sur la végétation en arrosant des plantules de blé avec des infusions de Belladone, car il ne constate aucun arrêt de développement. BOUCHARDAT (37) obtint quelques renseignements précis à l'aide de sels d'alcaloïdes; il ne put retrouver dans la

plante les sels dont il l'avait arrosée; il conclut que leurs effets sont dus à une action de présence. Mais RÉVEIL (38) trouva dans la plante le poison avec lequel elle a été arrosée, il expérimenta avec l'atropine et conclut à son rôle d'engrais, car elle active la fructification. MARRACCI (39) s'aperçut à la suite d'une étude comparée que l'action de l'atropine est la plus faible de tous les alcaloïdes, et qu'ils agissent surtout sur les racines qui s'atrophient peu à peu.

DE VARIGNY (40) reprenant les expériences de RÉVEIL voulut savoir si l'atropine joue vraiment un rôle d'engrais; il démontra que, suivant le milieu employé, sable calciné ou terre arable, l'action est retardatrice ou accélératrice; quant à son action sur la germination, elle est favorable ou non suivant l'espèce. M. Mosso (41) étudia l'action des solutions de concentration variable et montra que les variations constatées antérieurement sont dues seulement aux différences de teneur. M. MIRANDE (42) se demanda si les alcaloïdes ne paralysent pas ou n'excitent pas les ferments de la germination. M. OTTO (43), à la suite d'essais de culture et de germination de diverses plantes à l'aide de phosphate de strychnine, constata la disparition de celui-ci dans le sol et en collaboration avec M. FALK (44) il essaya de démontrer cette propriété de « désintoxication du sol ». M. LUTZ découvrit (45) une série de phénomènes d'un grand intérêt quant au cycle de l'azote des alcaloïdes dans la plante nourrie à l'aide de ces corps.

Nous avons relaté très succinctement ces fort nom-

breuses expériences qui permettent de concevoir jusqu'à un certain point le rôle d'aliment de l'alcaloïde. Nous reviendrons ultérieurement sur les conclusions de ces travaux en montrant comment elles peuvent cadrer avec les nouveaux faits que nous avons observés. A titre bibliographique et avant de clore ce long historique, nous devons citer encore l'opinion de PFEFFER (46) et de son école, attribuant à l'alcaloïde un rôle de protection contre les animaux. CLAUTRIAU (47) se faisant le porte-parole d'ERRERA (48) a adopté cette manière de voir; mais TOZETTI (49), relevant la liste de tous les animaux attaquant le Tabac, a montré qu'ils sont nombreux et d'ordres si différents qu'il est peu probable que la nicotine serve de protecteur contre leur attaque.

En général, les physiologistes ont admis jusqu'ici que les alcaloïdes sont des déchets de l'activité vitale, mais personne n'en a donné une démonstration précise.

Comme on le voit par cet exposé aride et incomplet, la Belladone et les alcaloïdes en général ont donné lieu à de nombreuses recherches, mais aucune étude spéciale et approfondie n'a été faite sur cette plante en particulier, si ce n'est celle de M. BAUR (50) dont la thèse a paru en 1919 à Berne. Il a conclu que les alcaloïdes jouent un rôle de protection ou de défense contre les parasites animaux et d'élimination de la concurrence végétale des plantes poussant autour de la Belladone !

BIBLIOGRAPHIE DE L'HISTORIQUE

- (1) BARTHE, *Toxicologie chimique*, Paris, 1918.
- (2) OGIER, *Traité de toxicologie*, Paris, 1902.
- (3) BEAUSITE, *Etude sur la teneur en alcaloïdes de la Belladone cultivée* (Thèse de l'Université de Paris, 1919).
- (4) PICTET, *Quelques considérations sur la genèse des alcaloïdes dans les plantes* (Annales des sciences phys., Genève, 329-1903).
- (5) CIAMICIAN et RAVENA, *Recherches sur la genèse des alcaloïdes dans les plantes* (25-404-1912).
- (6) WINTERSTEIN et TRIER, *Die alkaloiide*, Berlin, A, 1910.
- (7) GERRARD, cité (par POUCHET et LEWIN) in *Traité de Toxicologie*, Paris, 1919.
- (8) CHEVALIER, *Influence de la culture sur la teneur en alcaloïdes de quelques Solanées* (C. R. A., 150-344-1910).
- (9) RANSON et HENDERSON, *The chemist and druggist* (81-432-1912).
- (10) GORIS, *Localisation des alcaloïdes et des glucosides chez les végétaux*, 1914.
- (11) BEAUSITE, *loc. cit.*
- (12) CHEVALIER, *loc. cit.*
- (13) RANSON et HENDERSON, *loc. cit.*
- (14) DUNSTAN, *Bull. Imp. Institut* (222-1906).
- (15) UNGER, *Kapital foliæ Belladonæ* (Apot. zeit, 27-763-1912).
- (16) VREVEN et SCHREIBER, *De l'influence des éléments nutritifs essentiels sur la croissance et la teneur en alcaloïdes totaux de la Belladone*, 1905.
- (17) SIEVERS, cité (par ROLET et BOURET) in *Culture des plantes médicinales*, Paris, 1919.
- (18) MILLER, *The improvvements of medicinal plants* (Pharm. Journ. and trans., 35-367-1912).
- (19) FELDHAUS, *Quantitative untersuchung über verteilung des Alkaloiides in den organen von Datura Stramonium* (Arch. d. Pharm., 273-1905).

(20) CHUARD et MELLET, *Variation de la proportion de nicotine dans les divers organes de la plante de Tabac au cours de la végétation* (C. R. A. S., 155-293-1912).

(21) CLAUTRIAU, *L'azote dans les capsules de Pavot* (Rec. Inst. Bot. ERRERA, 2-265-1906; et dans le même, 5-1902 et 2-237-1906).

(22) HENDERSON, *The chimist and druggist* (loc. cit., 1912).

(23) LAURENT (*Revue bretonne de Botanique*, 2-71-1906).

(24) HECKEL, *Sur l'utilisation et la transformation de quelques alcaloïdes pendant la germination* (C. R. A. S., 110-88-1890).

(25) GAUCHER, *De la caféine et de l'acide cafétannique dans le Caféier* (Thèse de Pharm., Montpellier, 37-1895).

(26) BARTH, *Studien über den microchemischen nachweis von alkaloiden in arzneidrogen* (Arch. de Pharmacie, 236-354-1898, Zurich).

(27) TUNMANN, *Über die alkaloïde in Strychnos nux vomica während der Keimung* (Arch. de Pharm., 248-644-1910).

(28) STRASBÜRGER, *Über nerwachsungen und deren folgen* (Ber. d. Bot. Gesell., 3-34-1885).

(29) In LINDEMUTH, *Über angebliches Vorhandensein von Atropin.....* (Ber. d. d. Bot. Gesell., 24-428-1906).

(30) GRAFE et LINSBAUER, *Über die Wechselseitige Beeinflussung von Nicotiana Tabacum und Nicotiana affinis bei der Propfung* (Ber. d. d. Bot. Gesell., 24-428-1906).

(31) MEYER et SCHMIDT, *Über die gegenseit. Beeinflussung d. Symbionten. heteroplastisch. Transplantationen.....* (Flora, 100-317-1909-1910).

(32) LAURENT, *Etudes sur les migrations chimiques que peut apporter la greffe dans la constitution des plantes* (Thèse Doct. Sc., Paris, 1908).

(33) JAVILLIER, *Sur la migration des alcaloïdes dans les greffes des Solanées sur Solanées* (Ann. Inst. Pasteur, 24-569-1910).

(34) MARCET, *De l'action des poisons sur le règne végétal* (Ann. Sc. Phys. et Chim., 2^e série, 29-200-1825).

(35) PRINCEPS, *Note sur l'empoisonnement des végétaux par les substances vénéneuses qu'ils fournissent eux-mêmes* (Ann. Chim.-Phys., 2^e sér., 39-95-1828).

(36) GOËPPERT, *Recherches sur l'action de l'acide hydrocyanique et de quelques autres substances sur les plantes* (Ann. Sc. Nat., Botanique, 1^{re} sér., 14-384-1828).

(37) BOUCHARDAT, *De l'action qu'exercent sur les végétaux les produits organiques ou inorganiques qui sont des poisons pour les animaux* (C. R. A. S., 17-112-1843).

(38) REVEIL, *De l'action des poisons sur les plantes* (Thèse Doct., Lyon-Paris, 97-1865).

(39) MARRACCI, *Action de l'alcaloïde sur le règne végétal* (Ann. de Chimie et de Pharmacie, Milan, 1887).

(40) DE VARIGNY, *L'atropine est-elle un engrais végétal ?* (Rev. Génér. Bot., 4-407-1892).

(41) MOSSO, *Azioni di alcuni alcaloidi sul germogliamento dei semi sul successivo sviluppo della pianta* (Att. d. Soc. Linguistica di Scienzenat. z. Geog., Genova, 5-1-1894).

(42) MIRANDE, *Recherches physiologiques sur les Cuscutacées* (Paris, 1900).

(43) OTTO, *Über die einfluss haben Strychninsalzlosugen.....* (Zeischr. f. Pflanzen Krankh., 210-4-1894).

(44) R. OTTO et FALK, *Neuere versuche beetr. derentgiftungskraft der esbodens* (Nature-Wochensch., 7-103-1892).

(45) LUTZ, *Sur l'emploi des substances azotées comme source d'azote pour les végétaux vasculaires.....* (Bulletin Soc. bot. de France, 4^e série, 5-194-1905).

(46) PFEFFER, *Traité de physiologie végétale* (Paris, 469-1906).

(47) CLAUTRIAU, *loc. cit.*

(48) ERRERA, *Un ordre de recherches trop négligé* (Rec. Œuvres, L. Errera, I, 209-311-1908).

(49) TOSETTI, *Animale ed insettidel Tabacco in herba, del tobaccosecco* (Firenze, 1891).

(50) BAUR, *Studien über die Bedeutung der Alkaloïde in Solnaceen besonders in Atropa Belladonna und Datura Stramonium* (Dissert. Berne, 1919).

CHAPITRE PREMIER

ÉTUDE MICROCHIMIQUE

1. — Mode de localisation des alcaloïdes.

Un historique des méthodes microchimiques de localisation des alcaloïdes dans les tissus végétaux ne serait, dans ce genre de travail, d'aucune nécessité; je citerai seulement les différents auteurs ayant étudié et perfectionné les méthodes relatives à la localisation des principes actifs de la Belladone, étude purement expérimentale n'entrant pas dans les détails théoriques des réactions. D'ailleurs ces méthodes fort simples en général sont basées sur les réactions qu'utilise couramment l'analyse chimique.

Le grand inconvénient de la méthode chimique est de donner des résultats globaux s'étendant à tout le végétal, racine, tige ou feuilles; or toutes ces parties sont suivant la plante à des états biologiques très différents. Il faudrait, pour avoir une idée exacte de leur teneur en alcaloïdes, analyser un tout petit fragment d'organe; ceci est impossible étant donné que 5 grammes de matière séchée à 35° sont nécessaires pour avoir une analyse précise et

comparable. L'analyse chimique opérant sur la plante morte, tuée par dessiccation lente à l'étuve, ne permet plus de juger ce qu'était la vie normale. Il est démontré (1) que pendant le séchage la plante, continuant à vivre, forme ou détruit des alcaloïdes, et que des oxydations spéciales interviennent.

La méthode microchimique permet seule d'étudier les réactions *in vivo*; la section de l'organe examiné étant encore en pleine vie, le temps qui s'écoule entre la séparation de la plante et le moment de l'analyse est insuffisant pour modifier ses fonctions. On peut alors situer exactement l'alcaloïde et s'il existait un moyen microchimique pour le doser, le problème serait résolu de suite quant à ses variations.

Il est un grand nombre de réactifs spéciaux de l'atropine et des alcaloïdes mydriatiques; mais ceux qui ne détruisent pas les tissus et donnent une certitude quant à la présence de ces corps sont rares: l'iodure de potassium iodé et l'acide phosphomolybdique en solution aqueuse donnent seuls de bons résultats. Ils localisent sans distinction l'atropine et l'hyosciamine, ces deux alcaloïdes ayant la même formule mais différant seulement par leur pouvoir optique.

Le réactif de BOUCHARDAT ou iodure de potassium iodé provoque, dans les cellules de l'*Atropa Belladonna*, la formation de sphérules à reflets bleuâtres plus ou moins agglomérés; peu à peu elles se transforment en cristaux étoilés d'aspect métallique; j'ai remarqué que la vitesse de formation de ces cristaux dépendait de la teneur plus ou

moins élevée en alcaloïdes dans la cellule; cette vitesse peut être influencée par la chaleur (2). Mais j'ai vérifié l'action de la concentration cellulaire par des expériences, où je notais le temps de formation des cristaux dans deux tiges, l'une ayant une teneur élevée par suite de traitements spéciaux, l'autre normale; toujours la formation était plus rapide dans la tige à teneur maximum.

Dans une certaine mesure, la densité du précipité indique la proportion relative d'alcaloïde que peut contenir la cellule; ce procédé approximatif m'a souvent permis de prévoir avant l'analyse chimique si la teneur était plus ou moins forte que la normale. Je reviendrai ultérieurement sur ces résultats microchimiques et montrerai leur importance fondamentale.

L'acide phosphomolybdique donne un précipité jaune difficile à observer et moins précis que celui obtenu par le réactif de BOUCHARDAT; il m'a servi seulement comme réaction secondaire au même titre que l'eau de brome qui donne également des cristaux jaunâtres.

Au point de vue purement chimique, j'ai caractérisé l'atropine dans les extraits par la réaction de VITALI consistant à évaporer à siccité, avec une goutte d'acide nitrique fumant, la solution à examiner, puis à humecter le fond de la capsule avec une solution de potasse caustique dans l'alcool : il se produit une coloration violette passant rapidement au rouge.

La complexité du milieu cellulaire ne permet pas une certitude absolue quant aux réactions obtenues par les procédés microchimiques, les matières protéiques préci-

pitant aussi par ces réactifs; une technique spéciale s'imposait donc, elle fut indiquée par ERRERA (3) : l'on prépare des coupes transversales suffisamment épaisses pour contenir au moins une assise de cellules entières; de même pour les coupes longitudinales. On les trempe directement dans le réactif en les y laissant quelques minutes; l'on peut les déposer à même la lame dans une goutte d'eau; l'on recouvre d'une lamelle et l'on fait arriver le réactif latéralement; l'on suit ainsi la précipitation ou coloration sous le microscope.

Pour être certain que le précipité est bien dû à un alcaloïde, l'on plonge des coupes semblables aux précédentes dans de l'alcool tartrique capable de dissoudre les alcaloïdes. Après un séjour de quatre heures au maximum, si les coupes sont très épaisses, on les lave abondamment et on essaye les réactifs précédemment employés; l'on compare les réactions obtenues. Si les premiers précipités ont disparu, c'est qu'ils étaient dus aux alcaloïdes; s'ils persistent, il faut les attribuer aux matières protéiques dont l'alcool tartrique a facilité la précipitation dans la cellule.

Cette méthode microchimique, qui peut être discutable pour différentes plantes et d'autres alcaloïdes, est certaine pour la Belladone, quant aux réactions précipitantes indiquées ci-dessus. Ayant essayé sur une grande échelle les différents réactifs, je peux conclure que seuls les précipitants dont l'effet est de longue durée donnent une certitude absolue; les réactifs colorants sont toujours fugaces et surtout la dissociation des tissus empêche

toutes recherches ultérieures quant au lieu de la localisation. J'ai pu travailler au microscope pendant 20 minutes sur la même cellule où j'avais précipité l'atropine à l'aide du réactif de BOUCHARDAT; il était aisé d'examiner le noyau, les chloroleucites, leur position relative par rapport aux alcaloïdes, chose qui eût été impossible avec les réactifs colorants, tous à base d'acide sulfurique concentré.

II. — Localisation des alcaloïdes dans la Belladone.

DE WÈVRE (4), ANEMA (5), et MOLLE (6), surtout celui-ci, s'occupèrent de la localisation de l'atropine dans les différentes plantes qui en contiennent; le travail d'ensemble de MOLLE m'a servi de guide dans mes recherches et j'ai procédé comme lui par examen successif des différentes parties de la plante.

a) GRAINE. — CLAUTRIAU (7), BARTH (8), VAN DYCK (9), s'occupèrent exclusivement de la graine; ils faisaient des coupes à sec à travers la graine dans le sens transversal, laissaient arriver doucement le réactif sur la lame : alors l'assise sous-tégumentaire se gonfle et se remplit du précipité caractéristique, puis le réactif pénétrant plus avant colore l'albumen et l'embryon dans lesquels se forme un précipité brunâtre. Celui-ci est dû aux matières protéiques, car il apparaît encore après traitement à l'alcool tartrique. Cette méthode est assez délicate à employer car il est malaisé de faire à sec des coupes minces sans décoller cette assise sous-tégumentaire.

L'étude de ces graines n'a pu fournir aucun renseignement d'ordre biologique, étant donné qu'il est impossible de suivre la localisation pendant la germination; les assises gonflées par l'eau ne peuvent plus se couper facilement; je n'ai jamais pu retrouver l'alcaloïde dans des coupes ainsi faites: peut-être avait-il diffusé à l'extérieur; seule l'analyse chimique pourrait permettre de s'en rendre compte.

b) RACINE. — Dans une jeune racine au stade primaire, l'atropine, peu abondante, se localise dans l'assise externe de l'écorce et quelques assises immédiatement sous-jacentes; le cylindre central, durant toute cette période, en est totalement dépourvu; mais aussitôt que le cambium a commencé à fonctionner, on trouve de l'alcaloïde dans les tissus secondaires et les rayons médullaires; de même dans certaines assises du liber externe, les îlots de liber interne n'en présentent pas dans leurs éléments mais les cellules environnantes en renferment toujours abondamment. Malheureusement l'amidon apparaît assez rapidement et, se colorant en noir sous l'action de l'iodure de potassium iodé, masque presque complètement l'alcaloïde qui pourrait exister dans les mêmes cellules.

L'assise génératrice externe se met à fonctionner; il se forme un liège recélant dans ses parties jeunes un important précipité alcaloïdique; les parties externes n'en présentent jamais, car il est rare de voir subsister l'alcaloïde dans un élément mort. Dans une vieille racine, la localisation se conserve sensiblement ainsi, mais,

l'amidon s'accumulant toujours, les réactions sont moins précises. Le liber externe est riche en atropine, surtout dans ses rayons médullaires; la zone sous-jacente à l'endoderme en est littéralement bourrée ainsi que celui-ci. Une très grosse racine renferme proportionnellement beaucoup moins d'alcaloïde et celui-ci se trouve surtout dans les assises les plus externes.

c) TIGE. — La localisation dans une tige jeune est la même en moins intense que dans la tige ayant atteint son développement normal. Son sommet végétatif ne donne qu'une réaction faible, mais nette néanmoins; la formation de cristaux y est très longue; souvent le précipité reste à l'état granuleux. Le premier centre de différenciation intense est la zone périmédullaire, surtout aux environs des îlots de liber interne, puis l'intensité s'atténue vers le centre de la moelle où il subsiste faiblement; l'écorce est aussi très riche dans sa partie externe. Dans une tige où les formations secondaires sont bien définies, la localisation est fort nette et constitue des zones déterminées toujours semblables dans la plante normale.

En partant de l'extérieur on trouve : l'épiderme et ses poils qui en contiennent toujours abondamment; les stomates de la tige en présentent en petite quantité, et quelquefois pas du tout. Les différentes couches de cellules sous-épidermiques et autres sont le siège d'une semblable localisation allant en diminuant jusqu'à l'endoderme. Dans les cellules endodermiques, un précipité dense entoure les grains d'amidon et les chloroleucites;

les fibres en contiennent aussi certainement quoique M. GORIS (10) prétende le contraire; les cellules normales que l'on amène à se sclérifier dans certains cas en contiennent toujours en leur centre; les coupes longitudinales citées à l'appui par M. GORIS ne sont pas probantes; en effet, si la fibre est entière, l'on ne peut rien voir en son intérieur, car sa coloration jaunâtre et son épaisseur ne permettent pas à la lumière de la traverser; ou si la fibre était coupée, le contenu faible, par suite d'échanges réduits, a très bien pu s'échapper dans le milieu ambiant lors de la coupure et de l'action du réactif. D'autre part, pourquoi voir quelque chose d'anormal en cette présence d'alcaloïdes dans les fibres? Dans maintes expériences, j'ai pu faire former des éléments lignifiés au sein de la moelle ou dans l'écorce, et j'ai toujours trouvé un précipité alcaloïdique au centre de ces éléments qui étaient encore transparents.

Comme MOLLE, puis M. GORIS le constatèrent, il n'y a jamais de principes actifs dans les tubes criblés libériens, mais les rayons médullaires et les cellules du parenchyme secondaire libérien peu différenciées offrent un précipité important. Il est à noter que le précipité est d'autant plus abondant que les cellules *contiennent plus d'oxalate de calcium*; l'assise libéroligneuse proprement dite n'en contient jamais. La zone périmédullaire est de toute la tige la partie qui renferme le plus d'alcaloïdes; elle en contient d'autant plus que la partie considérée est plus rapprochée d'un îlot de liber interne; la moelle, dans les éléments voisins de cette zone, en possède, mais au centre les cellules en sont dépourvues.

Dans une vieille tige d'assez fort diamètre, il commence à se former, suivant la saison, une couche de liège qui remplace l'épiderme, celui-ci ayant éclaté sous les fortes pressions dues à la croissance rapide; l'assise génératrice subérophellodermique n'en contient jamais; les assises voisines au contraire en contiennent beaucoup; à mesure que le suber vieillit, l'alcaloïde disparaît et, dans ses éléments morts, il n'y en a plus trace, exactement comme dans le liège de la racine.

d) FEUILLE. — Le pétiole, très court, présente à peu près la même répartition alcaloïdique que la tige mais en moins intense en tant que densité dans la cellule; il semblerait que les épidermes, examinés par transparence après arrachement avec des pinces fines, en contiennent plus que l'épiderme de la tige, surtout l'inférieur. La disposition dans le faisceau est celle de la tige, mais, les tissus secondaires n'existant pas ou à peine, la localisation est fixe, semblable à celle d'un cylindre central au stade primaire, ayant une vie intense.

Le limbe de la feuille de Belladone est très mince, par conséquent peu résistant au rasoir; il est très difficile d'obtenir des coupes contenant une seule épaisseur de cellules, et pas trop épaisses pour être observées aisément. La répartition autour du faisceau libéroligneux d'une nervure est très semblable à celle d'une partie quelconque du cylindre central de la tige. Le parenchyme lacuneux en contient en petite quantité et d'une manière décroissante à mesure que l'on s'éloigne d'une nervure;

il en est de même pour le parenchyme palissadique, mais les réactions dans ses cellules sont d'observation plus difficile car l'amidon des chloroleucites se colore fortement et masque la réaction ; avec l'acide phosphomolybdique, je n'ai jamais rien obtenu de précis.

Quant aux épidermes, il est nécessaire de les arracher délicatement avec une pince fine et une aiguille lancéolée ; on les plonge dans une goutte de réactif et on les étale sur la lame, un morceau dans un sens, l'autre retourné. Dans l'épiderme supérieur, la teneur est moins grande que dans l'inférieur ; MOLLE et CLAUTRIAU (11) avaient déjà constaté ce fait chez les Solanées, en général. La teneur est plus grande surtout dans les cellules situées au-dessus des nervures. Les stomates contiennent peu ou pas d'alcaloïde. L'épiderme inférieur est semblable au supérieur mais donne une précipitation plus intense. Les poils jeunes et vieux donnent tous une précipitation intense, surtout au voisinage des cloisons transversales, ainsi que l'a indiqué GORIS, mais les poils à tête glanduleuse n'en renferment jamais.

e) ORGANES DE REPRODUCTION. — Je n'insisterai pas sur ces parties florales, ne les ayant étudiées que très succinctement. Les sépales se comportent comme les feuilles ; dans le pédoncule de l'étamine, les cellules épidermiques et l'endoderme du faisceau libéroligneux en présentent seuls. Dans l'anthère, l'épiderme et l'assise nourricière des cellules mères du pollen renferment de l'alcaloïde en petite quantité ; dans chaque carpelle du

pistil, l'alcaloïde se localise légèrement dans tous les éléments, mais surtout autour des quatre faisceaux; dans le style on le rencontre dans le voisinage des faisceaux et du tissu conducteur. L'ovule donne des précipités intenses dans sa couche superficielle. L'embryon et l'albumen, au cours de leur formation, en sont totalement dépourvus.

III. — Variations de la localisation microchimique
dans la plante normale
soumise aux actions de différents facteurs.

a) ACTION DE L'ÉCLAIREMENT. — En observant un pied de Belladone, l'on voit que la couleur des tiges et des pétioles est différente suivant leur exposition par rapport à l'éclairement, la partie la plus insolée étant toujours la plus pigmentée. Ceci est surtout visible sur une jeune tige; plus tard, l'exfoliation de l'épiderme, et la formation de l'assise subéreuse cachent le phénomène. A cette différence de coloration correspond une dorsiventralité anatomique se répercutant dans les tissus; ce phénomène fut mis en évidence par M. DANIEL (12), qui en donne l'explication par la différence de capacité fonctionnelle entre la partie insolée et celle qui est à l'ombre. En effet, les organes exposés du côté le plus éclairé, par suite du travail chlorophyllien plus actif, présentent une augmentation de poids qui se compense par un accroissement de résistance des tissus de soutien; le tissu vasculaire, par ses larges faisceaux, amène beaucoup de sève brute créant une disymétrie dans la pousse foliaire.

J'ai examiné la répartition alcaloïdique dans des tiges exposées à un éclairage unilatéral. J'ai constaté toujours une répartition plus intense du côté du dos, c'est-à-dire dans la partie frappée directement par les rayons solaires. Les tiges exposées à la lumière unilatérale avaient, au moment des cueillettes successives effectuées du 15 avril au 15 mai 1920, une épaisseur de 1 c/m à 1 c/m 5 de diamètre. Elles présentaient, sur la face la plus éclairée, une pigmentation accentuée, tandis que de l'autre côté la couleur de la tige était vert pâle ; cette différence était plus marquée chez les plus jeunes et au début du printemps, ce qui se comprend encore par l'augmentation de l'insolation avec l'avancement de la saison.

Des coupes transversales effectuées chaque semaine pendant un mois, à des niveaux différents sur toute la longueur de la tige, présentaient en dehors de la dysymétrie anatomique citée ci-dessus, du côté du dos, une chlorophylle abondante et un pigment sous-épidermique prenant une teinte bleu foncé sous l'action de l'acide sulfurique concentré, teinte qui ne disparaissait pas totalement sur la face opposée. Du côté du dos, les alcaloïdes étaient en plus grande abondance, tant dans l'écorce que dans la moelle, et surtout dans la zone périmédullaire de celle-ci ; en face du ventre, c'est-à-dire dans la région à l'ombre, la précipitation alcaloïdique était très faible, toujours présente dans l'écorce mais presque nulle dans la moelle et la zone périmédullaire.

Très surpris par ces résultats anormaux et nouveaux, j'examinai comparativement, à titre de vérification, des

tiges de Belladone ayant poussé dans un buisson épais formé par d'autres végétaux et abritées au sud par des arbres touffus ; ces tiges, sur une hauteur de 60 centimètres, n'avaient pu recevoir les rayons directs du soleil. La tige, à symétrie rayonnée, ne présentait aucun pigment ; la répartition des alcaloïdes était d'une densité très moyenne par rapport aux tiges de même diamètre poussées en plein soleil ; elle était très uniforme, tant dans les zones libériennes interne et externe que dans l'écorce.

Pour les racines, je constatai, autant que la grande abondance d'amidon le permettait, qu'à la suite de l'apparition d'une racine latérale formant sympode la symétrie axiale était transformée en une symétrie bilatérale et qu'il y correspond toujours directement une dorsiventralité alcaloïdique.

Cette dorsiventralité alcaloïdique dans la tige et dans la racine pourrait sembler anormale au premier abord, mais elle est pourtant logique et elle s'explique d'une façon très rationnelle par l'examen des capacités fonctionnelles relatives des différentes parties de la tige et de la racine. Dans la suite de ce travail, je serai obligé de revenir souvent sur ces questions de capacités fonctionnelles. Je définirai donc ce qu'appelle ainsi M. DANIEL (12) : dans une plante se développant normalement, l'élaboration, la circulation et la consommation sont en harmonie parfaite à tous les stades de son développement, et l'on dit qu'elle est alors en état d'équilibre de nutrition. M. DANIEL a défini cet état par la formule : $Ca = Cv$, en appelant capacité fonctionnelle d'absorption

(*Ca*) la quantité de sève brute qu'une plante doit puiser dans le sol pour assurer son développement normal, et capacité fonctionnelle de consommation (*Cv*) l'élaboration de la quantité de sève brute précédente et la consommation de cette sève lorsqu'elle est élaborée.

Cette définition générale, s'étendant à toute la plante, peut de même s'appliquer à un rameau ou à un fragment de ce rameau. Celui-ci présentera des phénomènes d'élaboration et d'absorption de sève brute; il aura donc une capacité fonctionnelle nettement définie, et *Cv* et *Ca* quant à la plante entière sont la somme de ces capacités fonctionnelles partielles; l'on peut contrétiser ceci par un exemple : une plante poussant moitié à l'ombre, moitié au soleil, présente deux états biologiques différents; leurs développements anatomiques et physiologiques s'en ressentent : les tiges dorsiventrales par rapport à l'éclairement sont en déséquilibre physiologique; la partie exposée aux rayons solaires travaille plus activement, ses parenchymes chlorophylliens se développant plus rapidement; l'élaboration sera donc plus active et nécessitera une absorption et une montée de sève plus abondante de ce côté, d'où déséquilibre anatomique.

Quant aux alcaloïdes, soit déchets, soit aliments, il est logique qu'ils existent en plus grande abondance du côté du travail maximum.

Je peux donc conclure que la quantité d'alcaloïdes sera en relation directe avec la capacité fonctionnelle d'élaboration ou de consommation.

Je voulais savoir alors comment pouvait varier la loca-

lisation à la suite de blessures profondes ou superficielles (décortication annulaire, décapitation ou pincement); en un mot je modifiai à des degrés divers les fonctions de la Belladone par l'établissement de points d'appel accidentels plus ou moins intenses.

b) GRATTAGES. — Dans les cultures du jardin du laboratoire, j'avais remarqué que la présence d'alcaloïdes n'empêchait pas les limaces d'attaquer les Belladones, fait mis en évidence déjà par ERRERA (13 et 14); ces mollusques, avec leur radula, râpent très délicatement l'épiderme et un nombre variable d'assises de l'écorce de la tige; quelquefois même, sur les plantes jeunes, ils atteignent le tissu ligneux et libérien. J'essayai à plusieurs reprises de voir ce qui se passait quant aux alcaloïdes dans ces parties blessées, mais les tissus se dessèchent et se corrodent toujours à des degrés divers sans fournir de cicatrisation normale; il semblerait que le mucus des limaces attaque les tissus mis à nu par le mollusque.

Pour résoudre la question, j'effectuai des grattages superficiels dans lesquels j'enlevai l'épiderme et l'assise sous-épidermique d'une jeune tige à peine ligneuse et entièrement verte. Après une dizaine de jours, la cicatrisation s'était effectuée d'une façon parfaite à l'aide de méristèmes corticaux. La partie externe était formée de cellules à assises parallèles, cellulosiques, et dont quelques-unes commençaient à se subérifier. L'assise génératrice subérophellodermique accidentelle contenait une grande quantité d'alcaloïdes, cette zone se délimitant

nettement des tissus environnants par une densité alcaloïdique élevée allant en s'atténuant vers l'intérieur. Les cellules les plus externes en contenaient beaucoup moins. Je ferai remarquer ici qu'à l'inverse des méristèmes normaux où l'assise génératrice ne contient pas d'alcaloïdes, celle-ci en est abondamment pourvue.

c) PIQÛRES. — Dans certaines tiges où s'était développée la très petite larve d'un insecte pouvant circuler dans les canaux de la moelle en y creusant des galeries, celle-ci avait réagi dans quelques cas par la formation de méristèmes accidentels localisant la blessure. L'irritation mécanique ou chimique causée dans l'attaque des tissus par l'appareil mandibulaire de l'animal ou par ses sécrétions, avait déterminé dans les cellules environnantes une augmentation des alcaloïdes; ceci était d'autant plus frappant que la moelle en son centre, dans une tige normale, n'en contient pas ou peu. Autour des plus grandes galeries, une réaction sclérenchymateuse avait apparu. On voit ici comment, à un travail très faible créant un léger déséquilibre, correspond aussitôt une formation de nouveaux alcaloïdes.

Désirant savoir si ce n'était pas seulement l'action de la salive de l'animal qui provoquait une réaction aussi intense, je pratiquai, à l'aide d'une aiguille fine, des piqûres longitudinales plus ou moins obliques atteignant toujours le centre de la moelle. Les coupes transversales passant par ces piqûres montrèrent à l'entrée du trou, dans l'écorce, une réaction anatomique ayant différencié

deux ou trois assises de cellules subérifiées. En descendant vers l'extrémité de la piqure, il s'était formé seulement des parenchymes celluloseux et, à l'endroit où l'aiguille s'était arrêtée, aucune réaction anatomique n'avait eu lieu.

Les alcaloïdes formaient un manchon d'autant plus épais que la réaction cicatricielle avait été plus active, mais au sommet interne, au centre de la moelle, la présence du passage de l'aiguille était décelée par une accumulation sphérique de principes actifs. Il n'y avait aucune trace de blessure, l'aiguille s'était sans doute arrêtée dans l'assise supérieure, mais, pour ainsi dire par résonance, la partie inférieure avait réagi activement. On peut donc conclure qu'une action purement mécanique, en dehors des agents irritants externes, peut provoquer une formation d'alcaloïdes.

d) ENTAILLES RECTANGULAIRES. — Poursuivant plus loin l'étude des blessures systématiques, j'établis des entailles rectangulaires de 6 millimètres de largeur sur 6 à 8 centimètres de hauteur, orientées dans toutes les directions, intéressant l'écorce au sens ancien du mot, c'est-à-dire tous les tissus extérieurs au bois. J'ai constaté que la réaction alcaloïdique variait dans les coupes transversales effectuées à différentes hauteurs au-dessus, au niveau ou au-dessous de l'entaille. J'ai remarqué, dans le bourrelet cicatriciel latéral, que les alcaloïdes existaient en grande abondance; il en était de même à la partie supérieure; le bourrelet transversal était plus développé que les bourrelets latéraux.

Ce bourrelet déterminait, à la partie supérieure de la tige non écorcée, une dorsiventralité qui allait en diminuant au fur et à mesure de l'éloignement : cette dorsiventralité anatomique était concordante à une dorsiventralité physiologique, celle des alcaloïdes. Inversement, dans la partie normale située au-dessus de la blessure, rien n'était modifié au point de vue anatomique; il y avait une légère augmentation des alcaloïdes dans les tissus normaux. Il semblerait qu'il y ait un courant descendant d'alcaloïdes qui sera mieux encore mis en évidence par l'examen microchimique de la décortication annulaire et surtout par l'analyse chimique.

Dans la partie de l'entaille non recouverte par les tissus cicatriciels, le bois était à nu et, quelle que fût la situation des blessures par rapport à la lumière, il n'y avait pas dans la moelle de dorsiventralité des alcaloïdes par rapport à cette entaille. La lumière n'agirait donc pas directement dans la formation des alcaloïdes. Les parenchymes périmédullaires seuls autour du liber interne présentaient une légère accentuation en face de la partie blessée. Peut-être y aurait-il une relation directe entre les libers interne et externe au point de vue de l'élaboration des principes actifs.

Ces résultats ne sont pas en contradiction avec la dorsiventralité alcaloïdique des tiges éclairées unilatéralement, mais ils montrent, au contraire, l'intime liaison existant entre la capacité fonctionnelle des organes et la formation des alcaloïdes, une variation de la capacité fonctionnelle d'assimilation ou d'absorption se répercutant dans le même sens sur leur synthèse.

J'effectuai de même des entailles profondes atteignant le liber interne. Au point de vue anatomique, la moelle avait réagi en différenciant dans ses éléments du sclérenchyme. Cette partie sclérifiée contenait des alcaloïdes, les cellules de la moelle en cette zone en possédant toujours. Au centre des éléments, l'on voyait le précipité brun kermès caractéristique qui ne réapparaissait pas après l'action de l'hyposulfite de soude et un nouveau traitement par le réactif de BOUCHARDAT. A part cela, la répartition était analogue à celle du cas précédent ; la moelle, au-dessus et au-dessous, ne présentait aucune augmentation sensible des alcaloïdes.

e) DÉCORTICATION ANNULAIRE. — Les décortications furent faites pendant les deux années 1920 et 1921, à des époques et à des hauteurs variables, soit sur la tige principale, soit sur ses ramifications. L'anneau d'écorce enlevé était de dimensions oscillant entre 5 et 10 millimètres de large. Je décrirai ici en détail une décortication, les autres se ressemblant en tous points. L'anneau était situé sur la tige principale, à 10 centimètres du sol ; l'opération fut effectuée le 15 mai, au début de la floraison ; elle ne pouvait s'exécuter plus tôt car les tissus ligneux, insuffisamment lignifiés, auraient été coupés pendant l'incision. Le 3 juin, la lèvre supérieure ne présentait pas de bourrelet marqué, la circulation de la sève élaborée s'étant effectuée par le liber interne.

La partie supérieure présentait dans tous ses parenchymes une notable quantité d'amidon, dans la moelle

surtout qui n'en contient jamais normalement; ceci est une conséquence de la décortication annulaire mettant à des états biologiques différents les parties supérieure et inférieure de la tige : dans la partie supérieure, la localisation des alcaloïdes était notablement augmentée dans le liber, l'écorce et les rayons médullaires; dans la partie inférieure, l'inverse s'était produit; ils étaient surtout localisés dans le parenchyme libérien interne et la zone périmédullaire; la partie intermédiaire en contenait énormément dans la moelle et le liber interne.

L'augmentation des alcaloïdes au niveau de la décortication ne montre pas d'une manière absolue que ceux-ci ont été arrêtés dans une descente vers les parties inférieures, ce qui pourrait être; on pourrait penser plutôt que, le travail cicatriciel étant intense en cet endroit, les déchets ou aliments s'y sont concentrés; mais la blessure étant la même dans la partie inférieure, la localisation par ce fait aurait dû y être aussi intense. Les résultats de l'analyse quantitative exposés plus loin donneront des précisions sur le sens de ces observations.

f) PINCEMENT ET DÉCAPITATION. — Je décapitai le 15 mai 1920, à 15 centimètres du sol, une Belladone ; il y eut ainsi un arrêt de végétation dû à cette suppression de l'appareil assimilateur ; un rameau de remplacement se développa à la base, créant un point d'appel accidentel : les bois durent fournir de la sève brute en abondance et le cambium différencia du bois et du liber nouveaux. Mais une période de sécheresse de trois semaines causa

un nouvel arrêt de développement; une pluie abondante survint ensuite et permit une reprise active de végétation. Le 27 juin, quand j'examinai la tige principale, je trouvai deux nouvelles assises de bois (planche II, fig. 1). Le réactif de BOUCHARDAT montra que la partie libérienne récente, au contact de l'assise génératrice, avait, comparativement aux autres zones de la tige, une énorme quantité d'alcaloïdes; de plus, une dorsiventralité anatomique, physiologique quant aux principes actifs, s'était créée du côté du rameau de remplacement.

Dans des tiges normales, je constatai également cet arrêt de végétation dû à la sécheresse. La répercussion dans le liber, peu visible anatomiquement, était nette par la précipitation des alcaloïdes; ceux-ci étaient, comme dans le cas précédent, uniquement localisés dans les tissus libériens nouveaux et les rayons médullaires de deuxième formation. Ceci met en évidence l'existence dans le liber de zones physiologiques distinctes; l'amidon n'existait pas encore dans ces parties nouvelles alors que les albuminoïdes et alcaloïdes y étaient abondants.

En résumé, l'on peut dire que les méthodes de localisation permettent de suivre, à titre qualitatif surtout, l'évolution des alcaloïdes dans la plante (15).

BIBLIOGRAPHIE DU CHAPITRE I

(1) BAUR, *Studen über die bedeutung der alkaloïde in Solanaceen besonders in Atropa Belladonna und Datura Stramonium* (Diss. Berne, 1919).

(2) GORIS, *loc. cit.*, p. 132.

(3) ERRERA, *Premières recherches sur la localisation et la signification des alcaloïdes dans les plantes* (Recueil d'œuvres de L. Errera, Bot. Génér., Bruxelles, 1-209-1908).

(4) A. DE WÈVRE, *Localisation de l'atropine* (Rech. Bot. Inst. Errera, 2-237-1906).

(5) ANEMA, *Denetzel deralkaloiden bijenkele narkotische planten* (Proefschrift. Jahr. de Pharm., 27-197-1892).

(6) MOLLE, *Recherches de microchimie sur la localisation comparée des alcaloïdes des Solanées* (Rec. Bot. Inst. Errera, 2-281-1906).

(7) CLAUTRIAU, *loc. cit.*, p. 281.

(8) BARTH, *loc. cit.*, p. 354.

(9) VAN DYCK, *Chemische onderzœkingen over alkaloiden in verband met het Kiemen* (Utrecht, 1900).

(10) GORIS, *loc. cit.*, p. 133.

(11) CLAUTRIAU, *loc. cit.*, p. 22.

(12) L. DANIEL, *La théorie des capacités fonctionnelles et ses conséquences en agriculture* (Rennes, 1902).

(13 et 14) ERRERA, *Un ordre de recherches trop négligé, l'efficacité des structures défensives des plantes* (Bull. Soc. roy. de Bot. de Belgique, 25-86-1886; Recueil d'œuvres d'Errera, 1-311-1908).

(15) Jean RIPERT, *Sur la variation de la localisation et de la teneur en alcaloïdes et le rôle de ces substances chez la Belladone* (Revue bretonne de Botanique, 1920 et 1921).

CHAPITRE II

EXAMEN DE LA TENEUR ALCALOÏDIQUE DE LA PLANTE NORMALE

1. — Considérations générales et mode d'analyse.

Nous avons vu que l'examen microchimique ne permet pas de se rendre compte, même approximativement, de la teneur en alcaloïdes de la Belladone; or, les résultats fournis par l'analyse chimique sont très comparables, mais nécessitent une trop grande quantité de matière : ainsi, pour analyser les feuilles, il faut au minimum 5 gr. de poudre séchée à 30°; la Belladone fraîche contient en moyenne 80 % d'eau; ceci fait donc : $5 \times 80 = 400$ gr. de feuilles fraîches, ce qui représente la totalité des feuilles d'un pied de la plante, moyennement développé.

D'autre part, sur un même pied, toutes les feuilles ne sont pas au même état biologique; les plus jeunes travaillent plus activement que les vieilles; le dosage sera l'expression d'une teneur moyenne, suffisante quant à la pharmacopée, mais trop peu précise au point de vue biologique. Puis, pour analyser une plante jeune, il est nécessaire de prendre plusieurs pieds poussés dans des conditions aussi comparables que possible, d'où introduction d'un facteur nouveau, cause d'erreur. Néanmoins nous admettrons que ce chiffre moyen est suffisant

et, par le choix judicieux des échantillons à analyser, nous obtiendrons une précision, relative naturellement, mais comparable dans toute la série des expériences.

Il n'est pas nécessaire d'entrer ici dans le détail minutieux des méthodes d'analyse, si nombreuses qu'elles ont fait l'objet d'une thèse (1), ouvrage précis et méthodique dans lequel j'ai puisé le mode d'extraction exposé ci-dessous. Un mot néanmoins serait utile quant à la compréhension des résultats fournis par ces différents procédés. On peut classer ces méthodes en deux groupes : dans le premier, on opère par extrait, c'est-à-dire qu'on extrait de l'organe par un dissolvant approprié certaines matières servant de substratum aux produits alcaloïdiques et ensuite on dose les alcaloïdes de cet extrait; dans le deuxième, l'on dose directement les alcaloïdes sans s'inquiéter du poids de cet extrait.

M. BEAUSITE, faisant remarquer qu'une feuille de Belladone peut donner un rendement élevé en extrait à titre alcaloïdique faible alors qu'inversement on obtiendra avec une autre Belladone une faible quantité d'extrait à titre alcaloïdique élevé, ajoute plus loin (2) : « la valeur pharmaceutique de l'extrait réside bien plus dans sa teneur en alcaloïdes que dans son poids global ». Cette opinion étant admise et considérant le but de mon travail, je me suis décidé pour l'emploi d'une méthode d'analyse sans extrait préalable, simple et précise, préconisée par M. BEAUSITE comme donnant des résultats très comparables. Du travail purement analytique de ce dernier, quant aux procédés d'extraction, il ressort une

donnée intéressante sur la comparaison des résultats d'analyses faites dans d'autres pays : les différences si importantes notées d'un pays à l'autre proviennent peut-être des facteurs météorologiques, cultureux et autres, mais le mode d'analyse en serait également la cause. Ainsi, sur le même échantillon, l'analyse par différents procédés lui donna (3) des différences atteignant plusieurs centigrammes, même 1 ou 2 décigrammes.

J'ai toujours opéré rigoureusement dans les mêmes conditions expérimentales, guidé par l'idée précise des résultats comparables. J'ai exécuté mes analyses par le procédé COESAR et LORETZ (4), énoncé ainsi par eux : « On mélange 15 grammes de poudre séchée à l'air avec 150 grammes d'éther; on ajoute au bout de 5 minutes 10 grammes d'ammoniaque et on laisse macérer une demi-heure en agitant longuement; ajouter ensuite 10 centimètres cubes d'eau, agiter. Décanter, après séparation, 100 grammes d'éther et agiter avec 15, 10 et 10 centimètres cubes d'acide chlorhydrique à 1 %. Filtrer les solutions acides, alcaliniser avec de l'ammoniaque et épuiser cette solution alcaline avec 15, 10 et 10 centimètres cubes de chloroforme. Filtrer le chloroforme dans une fiole tarée, évaporer le chloroforme à une douce chaleur, reprendre le résidu par 5 centimètres cubes d'éther et évaporer également. Sécher ensuite dans un dessiccateur jusqu'à poids constant et peser le résidu. Pour vérifier le résidu titrimétriquement, reprendre le résidu par 1 ou 2 centimètres cubes d'alcool absolu, additionner la solution de 20 centimètres cubes d'eau et

de quelques gouttes d'hématoxyline, titrer par l'acide chlorhydrique décinormal ou centinormal. L'on sait qu'à 1 centimètre cube d'acide sulfurique centinormal correspond 0 gr. 00289 d'atropine; il suffit de multiplier le nombre de centimètres cubes trouvés par ce coefficient moyen pour avoir la quantité d'alcaloïdes contenus dans l'analyse ».

J'ai cru devoir légèrement modifier le mode opératoire suivant les indications données par M. BEAUSITE. La macération d'une demi-heure n'est pas suffisante; poussée à 24 heures, les résultats sont comparables aux autres procédés; les procédés de dosage pondéraux sont peu exacts par suite d'une trop grande quantité d'impuretés entraînées et dosées comme alcaloïdes. Pour cet auteur, l'évaluation titrimétrique est absolue et totalement suffisante.

J'ai donc dû appliquer ces modifications, me rapprochant ainsi du procédé indiqué par M. BARTHE (5) et employant l'acide sulfurique centinormal en présence d'iodéosine comme indicateur coloré. Le chloroforme se chargeant toujours d'une petite quantité d'ammoniaque, avant de l'évaporer, je l'ai lavé à deux reprises avec 5 centimètres d'eau. Ayant évaporé le chloroforme à une température de 35° dans une fiole de verre blanc non alcalin et tarée d'avance, j'ai pesé le résidu, puis, le reprenant par 4 centimètres d'alcool absolu, je l'ai étendu à 20 centimètres avec de l'eau distillée; j'ai ajouté 3 gouttes d'une solution étherée d'iodéosine à 0 gr. 30 %; j'ai versé assez d'éther pour former une

couche surnageante facilitant beaucoup l'observation du virage. Alors j'ai laissé couler lentement, à l'aide d'une burette graduée, la solution aqueuse d'acide sulfurique normal jusqu'à l'apparition d'une couleur jaune paille, signe du virage. Il faut prendre soin d'agiter après chaque addition de liquide. Le virage effectué, l'on note la quantité d'acide écoulé et l'on ajoute à l'aide d'une autre burette quelques gouttes d'une solution de soude centinormale jusqu'à réapparition de la couleur rose ; l'on note cette quantité de soude puis on laisse couler à nouveau de l'acide pour faire réapparaître le virage. L'on peut ainsi doser exactement, par différence, la quantité d'acide nécessaire pour saturer les bases alcaloïdiques. Une multiplication et une règle de trois donnent le titre en alcaloïdes pour 100 grammes de poudre de Belladone séchée à 35°.

Quoique COESAR et LORETZ aient étudié leur procédé pour 15 grammes de poudre, il convient aussi bien pour des quantités moindres; ainsi j'ai réalisé de très bonnes analyses avec 5 grammes de poudre, l'échantillon étant peu abondant; il n'y avait qu'à modifier les quantités de solvant.

Je veux insister ici sur la comparabilité des moyens de dessiccation des plantes; il faut en effet que la poudre prélevée ait toujours le même degré hygrométrique; aussi j'ai utilisé pour cela une grande étuve de SCHRIBAUX intensément aérée et chauffée à 35°; la température ne varia jamais plus de 32 à 37°. J'y laissai les plantes un temps uniforme suivant la saison, et, par des pesées

successives, je déterminai si elles étaient bien sèches et au même état. De même, pendant la cueillette, je veillai attentivement à ce qu'aucune éclaboussure de terre ne les salisse et n'augmente ainsi leur poids.

Les feuilles furent toujours séchées une fois coupées et séparées de la tige, car, comme je l'avais remarqué et comme je l'exposerai par la suite, les feuilles adhérant encore à la tige mettent bien plus longtemps à sécher; leur vie étant ainsi prolongée, les échanges vitaux pourraient avoir une influence sur la teneur en alcaloïdes. Les feuilles étaient coupées au ras de la tige pour avoir une longueur maximum de pétiole. Les tiges ne furent pas séchées entières; leur dessiccation étant très longue, il se produisait des oxydations au centre, jaunissant les tissus et amenant quelquefois des fermentations. Pour éviter cela, je les coupai en quatre longitudinalement; elles présentaient alors une surface de dessiccation maximum plus normale et un séchage plus rapide. De même pour les racines où il est fréquent de voir, dans les cellules à contenu amylacé, au bout de quelque temps de séjour à l'étuve, un commencement d'hydrolyse, je facilitai le séchage et le broyage en les découpant en lamelles minces de 1/2 centimètre d'épaisseur.

Pour obtenir des poudres homogènes, après avoir broyé les organes dans un moulin, je les pulvérisai au mortier avec un lourd pilon. Les poudres ainsi obtenues étaient remises à l'étuve pendant 24 heures avant leur emploi pour l'analyse.

J'ai suivi pendant les deux années 1920 et 1921 l'évo-

lution de la plante, notant les phénomènes biologiques généraux et la variation des alcaloïdes avec le temps. Ceci me permit de dresser les tableaux de ce chapitre et de vérifier la loi bien connue de la genèse et de la disparition des alcaloïdes dans la plante normale au cours de la végétation.

La conclusion qui découle de ces études est que les principes actifs croissent depuis la naissance de la plante issue de graine ou poussée sur souche jusqu'à un certain maximum de courte durée correspondant à la fécondation de la fleur, puis, aussitôt le fruit formé, la teneur va en diminuant, dans les feuilles de première pousse, pour devenir nulle au bout de quelques jours. Il est nécessaire de bien faire attention lors du prélèvement des feuilles sur la plante et de les choisir toutes du même âge : au cours du développement, des bourgeons latéraux et adventifs forment des feuilles ; celles-ci ne sont pas au même état biologique et, par conséquent, n'ont pas la même teneur alcaloïdique que les autres. Ainsi sur une même tige l'on trouve, au moment de la fructification, des feuilles ayant une teneur presque normale et d'autres un peu fanées ne contenant plus rien.

Il sera utile de comparer, au cours de cette étude physiologique, le résultat des analyses et celui de l'examen biologique pour vérifier si, comme le disait M. SIÉVERS : « l'indice d'une végétation luxuriante est en relation directe avec la teneur en alcaloïdes ». Il sera démontré par la suite qu'il n'en est pas ainsi ; de là la nécessité de modifier la technique des engrais employés pour aug-

menter le rendement des feuilles en nombre et en poids (6).

Ceci posé, entrons dans l'examen direct de la teneur alcaloïdique des *Belladones* cultivées au Laboratoire depuis 1916. A partir de 1918, ces pieds furent tous les ans arrachés du sol à fin de végétation, c'est-à-dire en décembre, suivant que la saison le permettait. Les souches trop grandes étaient divisées en 2 ou 3 éclats et replantées dans différents endroits du jardin du Laboratoire. Ces racines atteignaient en moyenne en 1918 une longueur de 15 à 20 centimètres et 2 à 3 centimètres de diamètre dans le milieu de leur longueur.

Le sol du Laboratoire est formé d'une terre très friable rapportée il y a 14 ans; elle est d'une qualité très inférieure, légère, argilo-siliceuse, assez riche en matières organiques et nécessite dans les parties réservées à la culture d'importants apports annuels de fumier de cheval et d'engrais chimiques complets à base de phosphates, nitrates et potasse. Mais n'ayant pas encore le matériel nécessaire pour étudier l'action de ces substances, j'ai laissé sans engrais le terrain où poussaient les *Belladones*; en 1918, 1919, 1920, 1921, elles ne reçurent aucun apport de quelque nature que se soit. Je dois dire, pour la compréhension des faits expliqués ci-dessous, que ce terrain présentait un sous-sol excellent, distant du sol de 25 centimètres, et ayant servi à cultiver jadis différentes primeurs sur couche chaude. En 1920, les *Belladones* n'avaient pas encore atteint ce sous-sol ainsi que le montrait l'examen de leurs racines; leur développe-

ment était normal, atteignant pour la première pousse une hauteur maximum de 1^m50 à 1^m60; les feuilles de la base mesuraient 18 centimètres sur 6 à 7 centimètres de large. En 1921, je constatai un fait surprenant; les Belladones étaient devenues géantes; elles atteignaient 1^m80 à 2 mètres de haut et les feuilles avaient souvent 25 centimètres de long sur 10 à 12 centimètres de large; la teneur en alcaloïdes était plus élevée qu'en 1920. Cette pousse anormale était due uniquement à ce que les racines, en s'allongeant, avaient atteint le sous-sol, et, y puisant une sève riche en principes nutritifs, avaient permis un développement intense de tous les organes; la comparaison de leurs racines avec celles d'autres témoins montra une différence de 4 à 5 centimètres de longueur et de 6 à 10 millimètres de diamètre.

II. — Variation des alcaloïdes durant la végétation.

En 1920, mes analyses quant à la végétation normale furent peu nombreuses et portèrent sur les feuilles seulement; car je m'intéressai surtout aux perturbations amenées par la greffe et les blessures. Mais en 1921, poursuivant d'autres buts, je prélevai tous les 15 jours les échantillons à analyser quant aux tiges, feuilles et racines.

a) ANNÉE 1920. — Au 18 mars, les feuilles étaient déjà bien développées; les tiges s'élevaient à 30 centimètres au-dessus du sol; la teneur des feuilles était de 0,297 % pour les alcaloïdes. En avril, cette teneur était de 0,321 %; les boutons floraux commençaient à se développer. Le 20 mai, les fleurs se pigmентаient; la teneur

des feuilles était de 0,354 %. Le maximum de développement fut atteint vers le 1^{er} juin, alors que les fleurs étaient en pleine fécondation et que quelques-unes étaient même déjà fanées : la teneur fut de 0,381 %. Je coupai à ce moment les tiges au ras du sol, permettant ainsi la formation rapide de repousses sur les souches restantes. De longs rameaux poussèrent vite, se garnirent de feuilles minces et atteignirent leur développement total le 10 juillet; leur teneur alcaloïdique s'éleva à 0,345 %, ainsi qu'on peut en juger par le tableau suivant :

TABLEAU N° 1.

	DATE DES ANALYSES.	TENEUR DES FEUILLES en alcaloïdes.
Feuilles de Belladone normale.	18 mars.	0,297 %
	1 ^{er} avril.	0,321 %
	20 mai.	0,354 %
	25 juin.	0,381 %
Repousses.....	10 juillet.	0,345 %

b) ANNÉE 1921. — Je ne veux pas trop insister ici sur la vie normale en 1920, car l'année suivante j'ai noté très minutieusement le développement général par rapport aux teneurs en principes actifs. J'ai également suivi l'évolution comparée des tiges, feuilles, racines, par rapport à la variation de la teneur albuminoïdique. J'ai dosé les albuminoïdes par le procédé de WILL et VARENTRAPP, la poudre à analyser étant préalablement soumise au bain-marie pendant 4 heures à l'action de l'alcool éthylique à 92° additionné de 2 % d'acide tartrique. Au

bout de ce temps, l'on filtre très soigneusement le contenu de la fiole, l'on rince la poudre à deux ou trois reprises avec de l'alcool absolu de façon à dissoudre les alcaloïdes qui pourraient encore y rester; j'ai vérifié sur une prise d'essai, prélevée à l'eau acidulée, qu'au bout de ce temps d'ébullition et dans ces conditions, il n'existait plus trace d'alcaloïdes dans la poudre. Celle-ci est alors mise à sécher, jusqu'à poids constant, dans une étuve à 35°. On prélève au moment de l'emploi la quantité nécessaire pour le dosage de l'azote albuminoïdique qui se fait par la transformation de ces matières en ammoniacque en présence de chaux portée au rouge; on titre l'ammoniacque dégagée à l'aide d'une solution décimale d'acide sulfurique. Ainsi, après avoir éliminé les alcaloïdes et les nitrates qui auraient pu fausser l'action de la chaux sodée, l'on est certain de ne doser seulement que l'azote existant sous forme albuminoïdique.

α) ANALYSE DES PREMIÈRES POUSSES NORMALES DE LA BELLADONE. — Il se développe au début de la reprise de végétation de la Belladone, sous terre, sur les racines et les vieilles tiges, de longues pousses blanchâtres, quelquefois légèrement pigmentées en rouge, mais jamais vertes. Elles ont l'aspect de rhizomes et peuvent, soit se développer de suite à l'air, soit courir horizontalement en terre en s'éloignant de 15 à 20 centimètres du pied mère. Au 10 février, elles contenaient 0,317 % d'alcaloïdes. Leur structure est celle d'un rhizome terminé par

un gros bourgeon écailleux, formé de feuilles blanchâtres serrées autour d'un petit bourgeon central. La teneur de la racine était à ce moment de 0,253 %.

Au 1^{er} mars, la température étant très douce, favorable à un développement intensif, les pousses sortant de terre atteignirent 15 à 20 centimètres; les feuilles, très longues, étaient encore enroulées légèrement. Leur pourcentage s'élevait alors à 0,445 % et à 0,387 % pour les tiges. La teneur en azote albuminoïdique, rapportée au poids de matière sèche, était de 2,11 %.

Au 24 mars, la plante correspondait à ce stade de rosette caractéristique chez la Jusquiame dans sa première année de développement. La tige principale, haute de 50 centimètres, à entre-nœuds rapprochés, présentait des feuilles largement pétiolées, charnues et souples. Quant aux alcaloïdes, on en trouvait alors 0,462 %; l'azote s'élevait à 2,23 %.

Au 18 avril, les Belladones, d'un aspect presque normal, amplement ramifiées, présentaient des feuilles de deuxième pousse qui atteignirent vite la dimension des premières; leur teneur était de 0,540 % quant à l'atropine et de 2,37 % quant à l'azote albuminoïdique.

Le 1^{er} mai, les fleurs étaient formées, encore vertes et petites; la caractéristique de la plante n'avait pas changé; les tiges étaient plus lignifiées et la moelle avait de grandes lacunes. Je notai alors 0,548 % d'alcaloïdes pour les feuilles; 0,515 pour les tiges; 0,244 pour les racines. La teneur en azote chez les feuilles était de 2,44 %.

Au 15 mai, les fleurs étaient totalement épanouies; les

plus avancées formaient leurs fruits; la plante était au maximum de végétation. Des tiges atteignaient 1^m50 à 2 mètres de haut. La teneur alcaloïdique était également à son maximum; l'analyse donna 0,575 pour les feuilles, 0,539 pour les tiges, 2,57 pour la teneur en matières albuminoïdiques.

Le 1^{er} juin, tous les fruits étaient formés; certains avaient déjà noirci. Les feuilles fanaient rapidement et un pigment roussâtre apparaissait sur quelques-unes; elles ne dosaient plus alors que 0,436 %; la teneur des racines n'avait pas sensiblement varié, elle était de 0,257 %.

Le 18 juin, la saison s'annonça comme très chaude; cette période de 17 jours suffit pour mûrir entièrement les fruits; leur pédoncule commençait à sécher; la teneur était abaissée à 0,173 % quant aux alcaloïdes des feuilles et leur pourcentage en azote s'élevait à 0,08 %. A ce moment des bourgeons latéraux et autres se développaient sur les tiges des feuilles de deuxième pousse qui, une fois leur développement normal obtenu, restèrent plus petites que les premières. Le 1^{er} juillet, les feuilles entièrement jaunies étaient en majorité tombées à terre; les autres, roulées sur elles-mêmes, semblaient mortes. Leur teneur en alcaloïdes était nulle. Les Belladones dénudées avaient alors l'aspect d'un buisson dont chaque branche se terminait par un fruit noir luisant au soleil. Une analyse de la racine me révéla une teneur de 0,253 % en alcaloïdes.

De l'examen de cette première pousse, on peut tirer

les conclusions suivantes : la teneur croît dans les feuilles jusqu'à la floraison puis diminue pour disparaître totalement; dans les tiges, elle croît de même mais diminue lentement, les feuilles nouvelles entretenant toujours les échanges vitaux; néanmoins les extrémités se ramollissent et meurent. L'examen microchimique révèle une teneur nulle en alcaloïdes alors que la partie immédiatement inférieure en contient encore le 1^{er} juillet 0,216 %. La racine n'a pas varié sensiblement pendant la période de

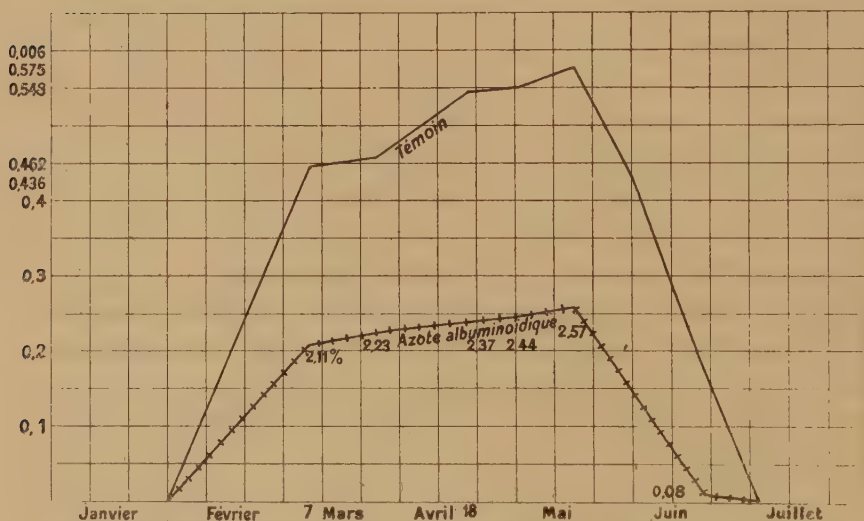


FIG. 1. — PREMIÈRE COURBE. Variation de la teneur en alcaloïdes dans la feuille de première pousse.

pousse rapide et de ralentissement d'activité; on pourrait en conclure que ses échanges sont constants. Si sa teneur n'augmente pas durant la belle saison, cela serait dû à ce que les alcaloïdes formés se répartissent dans les pousses nouvelles; en effet, la racine acquiert un poids notablement supérieur tous les ans; ses parties jeunes et ses parties vieilles ont le même pourcentage.

Le tableau n° 2 résume la variation comparée des alcaloïdes dans la feuille, la tige et la racine, ainsi que celle des albuminoïdes. — Il est possible de transcrire ces données sur un diagramme; on porte en ordonnées les pourcentages en alcaloïdes et, en abscisses, les temps. La courbe obtenue (fig. 1) met en évidence l'évolution relative des produits actifs et des matières albuminoïdiques dans la feuille.

TABLEAU N° 2. — *Belladone normale, première pousse (1921).*

DATES DES ANALYSES	ALCALOÏDES %			AZOTE ALBUMINOÏDIQUE %
	FEUILLES	TIGES	RACINES	FEUILLES
7 mars.	0,445	0,387	0,250	2,11
24 mars.	0,462			2,23
18 avril.	0,540			2,37
1 ^{er} mai.	0,548	0,515	0,245	2,44
15 mai.	0,575	0,539		2,57
1 ^{er} juin.	0,436		0,257	
18 juin.	0,173	0,410		0,08
1 ^{er} juillet.	0,000	0,216	0,253	

β) ANALYSES DES REPOUSSES DE BELLADONE. — Le 18 avril, j'avais prélevé pour expériences un certain nombre de tiges que j'avais coupées au ras du sol à l'aide d'un outil effilé permettant une rapide cicatrisation. Les tiges de remplacement présentèrent des feuilles séparées par de grands entre-nœuds et furent nombreuses et serrées. Au 1^{er} juin, leurs premières fleurs étaient épanouies; la teneur des feuilles en alcaloïdes était alors de 0,532 % et de 0,498 % pour les tiges. Le 25 juin, le maximum de floraison était atteint; un nouveau dosage fournit 0,548 %

pour les feuilles et 0,513 % pour les tiges. A ce moment l'été s'annonçait déjà comme très chaud et très sec, ce qui, d'après MM. RANSON et HENDERSON (7), représente les conditions optimum pour un développement parfait de la Belladone.

Le 1^{er} juin, j'avais sectionné, pour des analyses spéciales, quelques pieds; au 26 juin, les pousses réparatrices avaient atteint 70 centimètres. Leur teneur alcaloïdique était énorme et atteignait 0,852 % pour les feuilles et 0,524 % pour les tiges; je ne pus attribuer ce résultat qu'aux conditions climatologiques exceptionnelles de l'année 1921.

Un nouveau dosage donna le 6 juillet 0,874 % quant aux feuilles et 0,738 % quant aux tiges. A ce moment, les fleurs s'épanouissaient abondamment; les pousses n'avaient pas beaucoup grandi; elles étaient petites par rapport aux feuilles des premières pousses d'avril.

Elles présentaient cependant, malgré leur taille réduite, une activité physiologique exceptionnelle. Au 25 juillet, époque de fructification, les entre-nœuds n'avaient pas sensiblement allongé; les feuilles souffraient du manque d'eau qui avait arrêté le développement des bourgeons secondaires. Leur teneur était de 0,903 % pour les feuilles et 0,787 % pour les tiges.

Le tableau n° 3 rend compte de ces différences et il permet de conclure que la teneur alcaloïdique des tiges n'est pas à négliger, étant souvent égale à celle de la feuille. On peut dès lors se demander pourquoi l'on ne s'en sert pas dans l'industrie, son traitement étant le

même que pour la feuille; M. BEAUSITE, dans ses analyses, ne considérait que la feuille; il eût été pourtant intéressant de savoir si la teneur de la tige variait dans le même sens que celle des feuilles, sous l'action des différents engrais; en effet, rien ne l'indique *à priori*, le rôle physiologique de ces deux organes étant bien différent.

TABLEAU N° 3. — Teneur en alcaloïdes des pousses de remplacement.

PREMIÈRES POUSSES DE REMPLACEMENT			DEUXIÈMES POUSSES DE REMPLACEMENT		
DATES	FEUILLES	TIGES	DATES	FEUILLES	TIGES
1 ^{er} juin.	0,532 o/o	0,498 o/o	26 juin.	0,852 o/o	0,724 o/o
25 juin.	0,548 o/o	0,513 o/o	6 juillet.	0,874 o/o	0,738 o/o
			25 juillet.	0,903 o/o	0,787 o/o

Je voudrais faire remarquer encore que, dans le cas des deuxièmes pousses, une intensité vitale élevée correspondant à un développement morphologique réduit, la teneur alcaloïdique est néanmoins très forte.

III. — Variation des alcaloïdes dans la plante normale suivant différents facteurs.

De l'analyse des premières et deuxièmes repousses venues sur des pieds identiques, il ressort que seul le phénomène solaire a pu faire varier d'une façon si intense la physiologie de la plante. En effet, à la fin de mai et au début de juin, il y eut une pluie peu abondante; à partir du 10 juin, le temps se fixa au beau pour deux

mois; la pression barométrique très élevée varia peu pendant ce temps; le thermomètre au plein soleil monta, certains après-midi, jusqu'à 50°.

Au début les plantes purent puiser dans le sol encore humide les quantités d'eau nécessaires au départ de végétation si rapide déjà signalé, mais, le sol du jardin se desséchant rapidement, les Belladones ne purent croître d'une manière luxuriante; la résultante de cette vie en milieu sec fut comme toujours la formation d'organes petits mais travaillant avec le maximum d'intensité et produisant ce taux d'alcaloïdes élevé que je n'avais encore jamais observé au laboratoire. Ces faits précis viennent corroborer l'opinion déjà ancienne de MM. RANSON et HENDERSON (8) montrant que la Belladone cultivée au soleil sans engrais produit plus d'atropine qu'une plante grassement fumée mais non insolée directement. Ces observateurs ont relevé, de 1905 à 1912, les heures de soleil et la hauteur des pluies. Les résultats de leurs analyses sont résumés dans le tableau suivant que je crois utile de reproduire ici.

ANNÉES	ALCALOIDES	TOTAL DES HEURES	HAUTEUR
		DE SOLEIL	DE LA PLUIE
		du 1 ^{er} Mai au 30 Juin	du 1 ^{er} Mai au 30 Juin
	pour 100		en centimètres
1905.....	0,38	387	13,5
1906.....	0,54	361	9,65
1907.....	0,34	290	8,85
1909.....	0,48	387	13,60
1910.....	0,61	360	10,20
1911.....	0,59	404	9,05
1912.....	0,68	Saison très sèche et ensoleillée	

Ayant observé les variations des alcaloïdes de juin à septembre, ils remarquèrent, plusieurs années de suite, que si les conditions climatologiques ne changent pas, la variation n'est pas importante, ainsi que le montrent les chiffres du tableau ci-dessous que je donne ici à titre documentaire.

1905.	Temps très humide.....	Août.....	0,32 %
1905.	—	Septembre ..	0,35 —
1906.	Temps très beau, très sec.....	Juillet	0,54 —
1906.	—	Octobre.....	0,64 —
1907.	Temps sombre et humide..	Juin.....	0,33 —
1907.	—	Août.	0,33 —
1909.	Temps très beau et sec.....	Juin.....	0,44 —
1909.	—	Septembre ..	0,48 —

De mes expériences d'avril et de juillet, on peut réciproquement conclure qu'à des perturbations climatologiques rapides et intenses correspondent des fluctuations alcaloïdiques importantes.

UNGER (9) constatait en 1912 un fait analogue. Des feuilles de Belladone poussées à l'ombre contenaient 0,35 % d'alcaloïdes et 13,34 % de cendres; les feuilles développées en plein soleil dosaient 0,40 % avec 15,67 % de cendres.

Nous devons nous demander maintenant comment agissent les rayons solaires quant à la production de l'atropine. Est-ce par leur action directe sur la chlorophylle, augmentant ainsi la capacité fonctionnelle d'élaboration Cv, ou bien par un processus chimiosynthétique encore inconnu? Dans le premier cas, l'activité d'assimilation des feuilles interviendrait et une modifi-

cation de celles-ci se répercuterait sur la formation des principes actifs. Les engrais favorisant la production des feuilles doivent, en intensifiant leur travail, augmenter leur teneur alcaloïdique.

De nombreux essais de culture de la Belladone à l'aide d'engrais ont été réalisés mais rarement dans des conditions vraiment scientifiques.

Les études de M. CHEVALIER (10) ont montré en grande culture l'influence bienfaisante des différents engrais de toute sorte, surtout des nitrates.

MM. RANSON et HENDERSON (11) ont publié des résultats analogues après avoir analysé méthodiquement la valeur comparative des différents engrais. M. GORIS (12) a constaté également l'action améliorante en pleine terre des matières phosphoriques et potassiques. Mais on sait peu de chose sur l'assimilation des engrais dans le sol et dans ces cas si complexes on ignore quel est le véritable facteur qui agit. M. HENDERSON (13) l'a fait remarquer pour la potasse et le nitrate de soude : « Pour une terre recevant du nitrate de soude avec d'excellents résultats, dit-il, on conclut qu'il est la cause des augmentations de rendement; cela ne serait pas exact, car il a rendu assimilable la potasse contenue dans le sol, alors qu'elle ne l'était pas auparavant ».

MM. VREVEN et SCHREIBER (14) ont fait les expériences comparatives indiquées dans le tableau suivant :

Belladones de deux ans d'âge.

NOMBRES D'ORDRE	MATIÈRES NUTRITIVES AJOUTÉES AU CONTENU DE CHAQUE VASE DE VÉGÉTATION (c'est-à-dire à 22 kilogrammes d'alluvion de la Herck).	PREMIÈRE RÉCOLTE faite au début de la floraison			DEUXIÈME RÉCOLTE faite le 1 ^{er} septembre		RENDEMENT	
		RENDEMENT		Date du début de la floraison	Pourcen- tage des feuilles sèches en alcaloïdes	Rendement en feuilles sèches en grammes	total des deux récoltes en feuilles sèches	en racines (enlevées après la seconde récolte).
		En herbe totale fraîche sans les racines	En feuilles sèches sur la chaux vive					
		grammes	grammes			grammes	grammes	grammes
1-2	Engrais complet { 10 gr. Nitrate ammoniacque. 12 gr. Phosphate bisodique. 5 gr. Carbonate potassique. 4 gr. Carbonate calcique....	377	20,50	15 juin	0,704	36	56,50	38,50
3-4	— moins le carbonate magnésique	390	22,50	id.	0,637	37	59,50	39,50
5-6	— moins le carbonate calcique....	440	26,50	id.	0,700	40	66,50	46,50
7-8	— avec 12 gr. carbonate calcique..	367	24,50	id.	0,632	46	70,50	41,50
9-10	— moins carbonate potassique....	472	44,25	id.	0,786	7 ⁽¹⁾	18,25	2,50
11-12	— moins phosphate bisodique....	171	22,	28 juin 31 août	0,514	9 ⁽²⁾	31,	16,
13-14	— moins nitrate ammoniacque....	201	22,	2 août	0,413	6	28,	40,50
15-16	— avec 5 gr. nitrate ammoniacque.	290	17,50	15 juin	0,534	38	55,50	25,50
17-18	— avec 15 gr. nitrate ammoniacque.	405	28,	id.	0,630	44	72,	48,50
19-20	Sans addition d'engrais.....							

Les plantes ont péniblement végété et sont mortes au bout de quelques jours.

- (1) La plante n° 10 a péri après la première récolte ; les résultats se rapportent à la plante de l'essai n° 9.
(2) La plante n° 12 vint de donner la première récolte ; les résultats obtenus se rapportent à la plante n° 11.

De ce tableau ils ont tiré les conclusions suivantes :

Au point de vue de la végétation :

1° La Belladone s'est montrée très sensible à l'action de l'acide phosphorique, de l'azote et particulièrement de la potasse. Le manque de ces éléments se traduit par une forte dépression dans le rendement;

2° Les plantes cultivées dans les vases non additionnés d'engrais ont péri rapidement;

3° La dépression dans le rendement a été beaucoup plus accentuée pour les racines que pour les autres organes de la plante;

4° L'époque de la floraison s'est trouvée retardée par l'absence de phosphore, mais non par celle de potasse;

5° Les plantes privées d'azote, de phosphore, de potasse présentaient un aspect ou une coloration caractéristiques. A défaut d'azote, elles étaient chlorotiques; l'absence de phosphore se traduisait par une teinte violacée des feuilles et particulièrement des nervures. Les plantes dépourvues de potasse étaient flasques et l'une d'elles, fait fréquent dans ces circonstances, a péri.

Au point de vue de la richesse alcaloïdique des feuilles :

1° Les feuilles de la Belladone, cultivées en terre pauvre en azote ou en phosphore, renferment peu d'alcaloïdes et leur teneur alcaloïdique augmente notablement avec l'enrichissement du sol en matières azotées;

2° Les feuilles de Belladone, cultivées en l'absence de sels potassiques sont, par contre, riches en alcaloïdes.

Ces résultats montrent bien que dans le lot cultivé *sans potasse*, la terre n'en contenant presque pas, la teneur est la plus élevée, dans les deux récoltes, quoique le rendement en feuilles soit très faible; ceci confirme l'opinion émise plus haut, page 41. Or, ces plantes cultivées sans potasse ont des feuilles flasques, chlorotiques, et, d'autre part, ces engrais, comme le reconnurent NOBBE (15), ERDMAN et SCHRODER, sont indispensables à la fonction chlorophyllienne qu'ils activent, et par suite à la formation des hydrates de carbone.

Donc, des expériences de VREVEN et SCHREIBER, nous pouvons conclure que la synthèse des alcaloïdes ne dépend pas directement des phénomènes photosynthétiques chlorophylliens.

En résumé, nous pouvons dire que, pour obtenir à la fois une grande densité foliaire et un pourcentage intéressant au point de vue de l'extraction, il est nécessaire de réaliser une complète harmonie végétative entre les organes et les fonctions de la plante. Ces conditions seront réalisées si l'on s'arrange de façon à ce que les capacités fonctionnelles d'absorption et de consommation soient portées à leur maximum et présentent entre elles la relation $C_v > C_a$, dont la valeur sera calculée pour obtenir le maximum de produits élaborés (aliments ou déchets).

BIBLIOGRAPHIE DU CHAPITRE II

- (1) BEAUSITE, *loc. cit.*
 - (2) BEAUSITE, *loc. cit.*, p. 6.
 - (3) BEAUSITE, *loc. cit.*, p. 28.
 - (4) COESAR et LORETZ, *Geschäfts-bericht*, p. 26-28, 1905.
 - (5) BARTHE, *Traité de toxicologie*, *loc. cit.*
 - (6) VREVEN et SCHREIBER, *De l'influence des éléments nutritifs essentiels sur la croissance et la teneur en alcaloïdes totaux de l'Atropa Belladonna* (Ann. de Pharm., Ranwez, 17-97-1911).
 - (7) RANSON et HENDERSON, *The effects of cultivation and fertilisers on the growths of the plant and its alkaloidal content* (The chemist and druggist, 91-443-445-1912).
 - (8) RANSON et HENDERSON, *loc. cit.*, p. 444.
 - (9) UNGER, *Zum kapitel « foliæ Belladonæ »* (Apot. Zeit., 27-763-1912).
 - (10) CHEVALIER, *loc. cit.* et *Influence de la culture sur la teneur en alcaloïdes de quelques Solanées* (C. R. Ac. Sc., 150-344-1910).
 - (11) RANSON et HENDERSON, *loc. cit.* (81-432-434-1912).
 - (12) GORIS, *loc. cit.*, p. 183.
 - (13) HENDERSON, *loc. cit.* (1912).
 - (14) VREVEN et SCHREIBER, *loc. cit.* (1911).
 - (15) NOBBE, *Versuchsst.* (1870, V. 13, p. 321).
-

CHAPITRE III

VARIATIONS

DES ALCALOÏDES PROVOQUÉES EXPÉRIMENTALEMENT DANS LA PLANTE ADULTE SOUS L'ACTION DE DIFFÉRENTS FACTEURS

Comme je l'ai indiqué dans l'Introduction de ce travail, le but de ces expériences est de rechercher le rôle physiologique des alcaloïdes de la Belladone. Pour cela il était nécessaire d'obtenir des variations quantitatives de ces corps à l'aide de différents facteurs nettement définis et dont l'action était profonde. Ainsi j'aurais pu supprimer toute alimentation azotée chez la plante, mais celle-ci possédant une racine pesant de 200 à 300 grammes, les variations observées proviendraient peut-être du manque de nitrate; le phénomène n'aurait pas été intégral, la racine contenant un stock important de réserves azotées qu'elle aurait consommé au fur et à mesure de ses besoins. On sait que la racine de Betterave peut vivre un temps assez long sans souffrir du manque de nitrates; en effet elle en contient une si grande quantité qu'il lui faut un long temps pour les consommer en totalité. Donc il fallait avoir recours à des facteurs modifiant totalement l'état biologique de la plante; parmi eux, j'ai choisi

d'abord le facteur lumière. CLAUTRIAU (1) a recherché l'action de la lumière sur de jeunes plantes de *Coffea arborica* et de *Thea sinensis*; il constata au bout de 26 jours de vie à l'obscurité que l'alcaloïde n'avait pas disparu mais qu'il avait plutôt augmenté; cependant il n'affirmait rien. LOTZY (2) sur des *Cinchona succirubra*, TUNNMAMM et JENZER (3) sur l'*Erythroxylon coca* observèrent microchimiquement qu'il n'y avait aucune disparition des alcaloïdes.

Les expériences de Mac Ivor sur la culture des Quinquinas ont montré une augmentation des alcaloïdes à l'abri de la lumière. Il entourait l'arbre de mousse ou de tout autre écran permettant le développement d'écorce nouvelle dans une obscurité relative. Il conclut ainsi (4) : « les alcaloïdes deviennent plus abondants même si l'on écorce sans mousser (il considère également l'action de blessures longitudinales); les alcaloïdes impurs formés dans les feuilles descendent dans le liber puis se dirigent vers l'extérieur en se transformant en quinine pure. D'autre part l'air et la lumière oxydent cette quinine en la combinant à la matière colorante et à la résine. Or, le moussage supprimant l'action de la lumière, les alcaloïdes s'accumulent jusqu'à une limite déterminée ».

PASTEUR, en 1853, avait démontré la coloration à la lumière ou à la chaleur des solutions d'alcaloïdes des Quinquinas (production de rouge cinchonique, etc.)

La Belladone n'a pas été étudiée à ce point de vue et l'on peut même dire que le problème général du rôle de la lumière par rapport à la formation des alcaloïdes était

loin d'être résolu. Les recherches que je vais exposer ici ont pour but de contribuer à sa solution.

I. — Vie à l'obscurité.

Le 10 mars 1921, j'ai placé de jeunes *Belladones* à l'obscurité. A ce moment, les plantes étaient au début de leur végétation printannière et au stade de rosette pendant lequel sont rendues assimilables une partie des réserves emmagasinées dans la racine. Chez la *Belladone*, ce stade est de courte durée, 20 jours au maximum. Ces pousses étaient venues sur des souches de vieilles plantes âgées de 4 ans.

Je recouvris ces plantes de grandes caisses en bois ayant les dimensions suivantes : hauteur, 1 mètre; largeur, 0 m. 60; longueur, 0 m. 60. Les jointures des planches étaient recouvertes de lattes en bois et, pour assurer une obscurité parfaite, on les recouvrit de papier noir.

Les dimensions de cet écran permettaient à la plante de vivre en atmosphère normale; l'absorption des différents sels au niveau de la racine ne fut pas sensiblement modifiée la transpiration ne variant pas énormément. D'ailleurs, d'après PFEFFER (5) : « les plantes se développent normalement dans l'alternance du jour et de la nuit, ce qui montre que l'obscurité n'amène pas un arrêt de la croissance comme le fait un abaissement considérable de la température. Une plante qui a éprouvé l'action générale de la lumière peut continuer à fonctionner nor-

malement après que l'éclairement a cessé jusqu'à ce qu'enfin un séjour prolongé dans l'obscurité la fasse périr ou dirige son activité de croissance dans des voies anormales ? ».

C'est exactement ce qui se produisit dans mes expériences; par suite d'un séjour prolongé à l'abri de la lumière, la plante prit tous les caractères du végétal étiolé. Les phénomènes morphologiques montrent que l'intensité vitale était élevée; l'aspect des feuilles; leur largeur, leur longueur, leur épaisseur étaient peu modifiées; seulement les entre-nœuds des tiges étaient plus allongés que ceux de la plante normale. Le séjour à l'obscurité dura du 10 mars au 18 avril, c'est-à-dire 39 jours; à cette date, quand j'enlevai les écrans, les feuilles étaient totalement étiolées, sauf à la partie inférieure au ras du sol où elles étaient légèrement vertes. Ceci tenait à ce que pour maintenir un faible courant d'air dans la caisse, nécessaire pour empêcher de pourrir les feuilles en expérience, j'avais établi deux galeries dans le sol sous chaque écran, permettant de faire communiquer l'air ambiant et l'atmosphère intérieure.

Les tiges, totalement jaunes, présentaient sur 30 centimètres environ un pigment rose violacé sous-épidermique qui disparaissait au voisinage du sommet. Ces tiges avaient en moyenne 60 centimètres de haut et 1/2 centimètre de rayon. Elles étaient gorgées d'eau, car le temps était devenu très humide dans les dernières semaines de l'expérience; de nombreux boutons floraux s'étaient développés; quelques fleurs même s'étaient épa-

nouies. J'examinai avec une extrême attention la localisation microchimique des alcaloïdes : il y en avait partout comme dans une tige normale et il me sembla, autant qu'on peut en juger par cette méthode très approximative, que l'alcaloïde avait notablement augmenté.

Les épidermes de la feuille me surprirent avant tout; l'alcaloïde se trouvait dans toutes les cellules de l'épiderme supérieur, même dans les plus éloignées des nervures, chose qui n'existe pas normalement, car la localisation est nette seulement au-dessus des nervures; l'épiderme inférieur en contenait également partout et comme toujours plus que le supérieur. Ces feuilles étaient très cassantes, développées un peu plus que normalement dans le sens de la longueur; les parenchymes foliaires minces et souples étaient gorgés d'eau. Les épidermes s'arrachaient très facilement avec une aiguille lancéolée.

La structure des tiges était celle de toutes les plantes étiolées; les bois étaient clairsemés, à grands éléments; les parenchymes, lacuneux. Les photographies des coupes (fig. 1 et 2, pl. III), sont très significatives à ce sujet; l'on y voit nettement l'absence ou la production réduite de bois secondaires interfasciculaires tendant à fermer l'anneau ligneux. Elles étaient sillonnées de nombreuses côtes longitudinales très velues.

Ces feuilles dosaient au 10 mars, au début de l'expérience, 0,445 % d'alcaloïdes; le témoin poussé normalement à côté des caisses dosait, le 18 avril, 0,540 %.

Les feuilles des plantes restées à l'obscurité dosaient 0,752 %.

Ces résultats chimiques, corroborant l'examen microchimique montrent une augmentation notable des alcaloïdes à l'obscurité ; les Belladones étaient, en effet, à l'obscurité, si l'on admet que le peu de lumière qui passa sous les écrans fut insuffisant pour modifier l'expérience. D'ailleurs, les feuilles poussées au ras du sol, analysées à part, donnèrent une teneur de 0,590 % plus ou moins intermédiaire entre la teneur normale et l'obscurité totale régnant dans le haut de la caisse.

Je voulus également savoir quelle relation il pouvait exister entre les alcaloïdes et les albuminoïdes dans la vie à l'obscurité. Je les dosai par le procédé de WILL et VARENTRAPP décrit plus haut. Je trouvais que, le 7 mars, le témoin avait une teneur de 2,11 % de matières albuminoïdes, pour 100 grammes de poudre séchée à 35°, dépourvue de nitrates et d'alcaloïdes. Ce témoin, le 18 avril, en fin d'expérience, dosait 2,37 %.

Les tiges des feuilles poussées à l'obscurité présentaient, à l'examen des tissus par le réactif de MILLON, une teneur élevée de 4,90 %; d'où une augmentation énorme de ces substances, comparable à celle des alcaloïdes.

J'analysai de même, au 18 avril, les racines témoins et racines supportant les plantes poussées à l'obscurité; je trouvai, pour les premières, une teneur de 0,215 % d'alcaloïdes, et, pour les secondes, 0,190 %.

Cette légère diminution ne m'étonna pas; la teneur de la racine peut varier suivant ses parties et, pour l'analyser, il est très difficile de choisir des organes comparables. Il est donc nécessaire de faire un mélange homo-

gène de toute la racine, ce qui peut, malgré cela, introduire des différences de l'ordre de grandeur de celle que j'ai constatée.

Le tableau ci-dessous résume ces divers résultats.

TABLEAU N° 5

DATES DE L'ANALYSE	ALCALOIDES %			AZOTE ALBUMINOÏDIQUE % dans la feuille
	FEUILLES	TIGES	RACINES	
Témoin 7 Mars	0,445	0,387	0,250	2,11
Témoin 18 Avril	0,540	0,515	0,215	2,37
Obscurité 39 jours	0,752	0,713	0,190	4,90
Feuilles verdâtres	0,590	0,538		

Sans insister davantage sur cette expérience, je noterai que la teneur alcaloïdique de la tige, toujours légèrement inférieure à celle de la feuille, suit les mêmes variations.

Le 18 avril, ayant coupé des tiges au ras du sol, je remis sur les souches les caisses que j'établis de manière à ce qu'aucune lumière ne puisse parvenir sous l'écran. Pour cela, je disposai les galeries d'aération en chicane, c'est-à-dire formant un redan à angle droit arrêtant les rayons lumineux, mais permettant à l'air de circuler librement. Les tiges obtenues sous ces écrans se développèrent à l'obscurité totale, prélevant dans la racine les hydrates de carbone nécessaires à leur formation.

Le 5 juin, c'est-à-dire après un séjour de 48 jours à l'obscurité, je prélevai la moitié des échantillons. Ceux-ci étaient totalement dépourvus de pigments chlorophylliens; ils étaient d'un blanc jaunâtre, si ce n'est à la base des

tiges qui présentait une légère teinte violacée, analogue à celle que j'ai décrite dans la première expérience. Les tiges étaient peu ramifiées, d'une hauteur de 50 centimètres, parfaitement cylindriques et fortement velues. Elles étaient très cassantes; le bois possédait de grands éléments et le tissu ligneux secondaire était à peine apparu. Les feuilles, relativement petites, avaient 7 à 8 centimètres de long sur 4 centimètres de large en moyenne, tandis que les repousses témoins venues à l'air libre mesuraient 10 à 12 centimètres de long sur 6 à 7 centimètres de large.

L'examen microchimique me révéla la présence d'alcaloïdes en abondance dans tous les parenchymes, sauf au centre de la moelle de la tige. L'analyse chimique me donna un contenu alcaloïdique de 0,972 % dans les feuilles; celles des repousses témoins dosaient alors 0,532 % seulement.

J'analysai de même les tiges dont les teneurs furent, dans le premier cas, de 0,916 %; celles des témoins étaient de 0,498 %.

Ainsi, il y avait des différences considérables dans les teneurs relatives en alcaloïdes chez les deux catégories de Belladones. Ces différences étaient de $0,972 - 0,532 = 0,440$ pour les feuilles; $0,916 - 0,498 = 0,418$ pour les tiges.

Dans la première expérience, en partant de plantes déjà développées à la lumière, les différences, moins grandes, s'élevaient à : $0,752 - 0,540 = 0,212$ %, pour les feuilles; $0,713 - 0,515 = 0,198$ %, pour les tiges.

Les chiffres de cette deuxième expérience sont résumés dans le tableau n° 5.

NATURE des ÉCHANTILLONS	DATES DE L'ANALYSE	ALCALOIDES %		
		FEUILLES	TIGES	AUGMENTATION
Témoin	5 juin	0,532 ‰	0,498 ‰	0,212 ‰
Belladone étiolée	5 juin	0,972 ‰	0,916 ‰	0,498 ‰

Nous pouvons, comme dans le cas de la plante normale, traduire en courbe ces différents résultats en portant en abscisses le temps et en ordonnées la teneur % en alcaloïdes et en albuminoïdes. Cette courbe (fig. 2) montre clairement que l'augmentation alcaloïdique à l'obscurité est parallèle à celle des albuminoïdes.

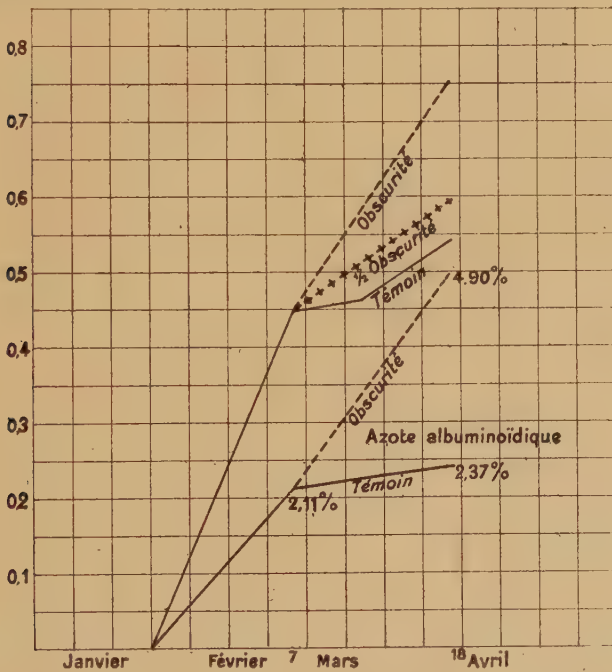


FIG. 2. — Variations des Alcaloïdes et des Albuminoïdes à l'obscurité.

Le 5 juin, après avoir prélevé les échantillons pour les analyses ci-dessus, j'enlevai les écrans recouvrant ces plantes étiolées, les mettant ainsi en pleine lumière. Or, à ce moment, la température était élevée; le ciel, très pur, d'une intensité solaire maximum. Elles eurent beaucoup de mal à reprendre l'équilibre des plantes vivant en pleine lumière, et souffrirent de cette insolation intense; les feuilles se recroquevillèrent de manière à offrir une surface d'évaporation minimum. Elles ne se développèrent pas en hauteur et aucun bourgeon secondaire n'était apparu le 18 juin, à la fin de l'expérience relatée ci-dessous.

Le 10 juin, je prélevai une partie de ces tiges qui étaient encore jaune verdâtre, portant seulement quelques taches vertes entre les nervures des feuilles. La teneur alcaloïdique était alors, chez les feuilles, de 0,958 %; celle des tiges était de 0,921 %.

Je prélevai un deuxième lot le 14 juin au soir, c'est-à-dire après 9 jours d'insolation; la couleur était plus verte, mais quelques parties encore étaient jaunes; les feuilles s'étaient légèrement durcies et étalées.

La teneur en alcaloïdes était de 0,703 %, dans les feuilles et de 0,802 % dans les tiges.

Le dernier lot, prélevé le 18 juin en fin de journée alors que les tiges et feuilles avaient repris la couleur normale, me donnèrent une teneur en alcaloïdes de 0,550 % pour les feuilles.

La localisation microchimique des alcaloïdes dans les feuilles et dans les épidermes était profondément modifiée

par suite de ce retour à la lumière. Il n'y en avait presque plus dans l'épiderme supérieur et ils avaient diminué notablement dans l'inférieur, ramenant ainsi la feuille au même état que les témoins.

Les résultats ainsi obtenus sont consignés dans le tableau n° 6.

TABLEAU N° 6

NATURE DES ÉCHANTILLONS	DATES des ANALYSES	TENEUR EN ALCALOÏDES ‰		DIMINUTION ‰
		FEUILLES	TIGES	
Pousses étiolées.....	5 juin	0,972	0,916	
Témoin normal.....	18 juin	0,550	0,498	
Plante remise à la lumière..	10 juin	0,958	0,921	0,014
Après 9 jours d'insolation..	14 juin	0,703	0,802	0,260
Après 13 jours d'insolation..	18 juin	0,548		0,422

De même la courbe (fig. 3) permet de comprendre facilement ces variations.

La diminution rapide des alcaloïdes ne peut être attribuée qu'à l'action directe des rayons lumineux. Il semble que seul le coefficient insolation soit la cause de ce phénomène; en effet, dans la caisse, la transpiration était plus faible qu'à l'extérieur, car la chlorovaporisation, due aux phénomènes de photosynthèse, n'existait pas.

Dans une saison de végétation du printemps à l'automne, il y a des à-coups météorologiques, de durée variable, c'est-à-dire des périodes humides succédant brusquement à une période de sécheresse, et vice-versa, Dans ces cas, la transpiration subit des variations profondes et rapides. PFEFFER (6) l'a constaté et démontré

nettement. A la fin de mai et au début de juin, il y eut de ces variations brusques; cependant elles n'influen-

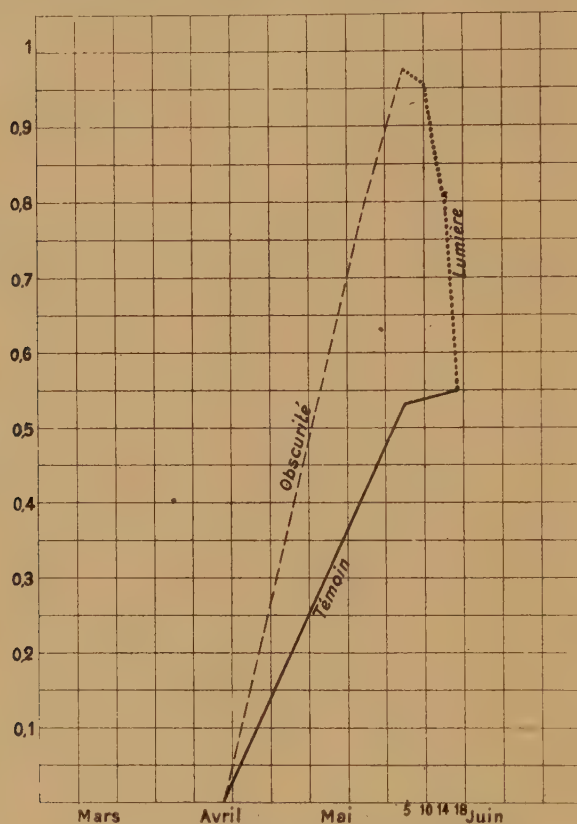


FIG. n° 3. — Augmentation des Alcaloïdes à l'obscurité.
Diminution à la lumière. — Dans la plante étolée

cèrent pas sensiblement la teneur en alcaloïdes de la plante normale, ainsi que le montrent le tableau n° 2 et la courbe correspondante à celui-ci (fig. 1).

La respiration ne varie pas beaucoup à la suite du passage d'une plante de l'obscurité à la lumière, d'après les recherches de BONNIER et MANGIN (7); la lumière et

surtout les rayons les moins réfrangibles amènent une faible diminution de l'activité respiratoire d'une plante qui, à l'obscurité, pousse et travaille d'une façon anormale (8). BORODINE (9) a observé cette légère diminution chez des plantes qui avaient subi un séjour prolongé à l'obscurité. Donc, la respiration, pas plus que la transpiration, n'aurait pu produire cette modification du taux alcaloïdique et nous devons chercher la solution du côté des phénomènes chlorophylliens ou de la photosynthèse.

Les expériences de WIESNER (10) montrent que les différences de transpiration dues au passage de la lumière à l'obscurité et vice-versa sont plus faibles pour des plantes étiolées, ce qui n'est le cas que pour les plantes vertes. Les rayons visibles du spectre, dès qu'ils sont transformés dans la plante en vibration calorifique, agissent sur la transpiration dans le même sens qu'un échauffement obtenu par une autre voie (11).

II. — Expériences avec écrans colorés.

En avril, j'avais essayé la culture du *Solanum Dulcamara* derrière des écrans colorés, formés soit par des solutions de bichromate de potassium, soit de sulfate de cuivre. A ce moment, j'avais en vue seulement l'étude des modifications anatomiques pouvant résulter de cette diversité d'éclairement. J'avais obtenu au bout de 3 semaines des plantes bien développées; les différences entre les deux individus étaient prononcées; derrière les écrans rouges, la tige, très développée, présentait des entre-nœuds longs,

tandis que derrière le sulfate de cuivre, la plante était plutôt petite, avec de nombreuses feuilles disposées autour d'une tige grosse et courte. Je n'insisterai pas sur les détails anatomiques, car les photographies des deux coupes (fig. 1 et 2, pl. IV), faites dans des entre-nœuds semblables, font ressortir suffisamment les différences de structure et surtout celles du tissu ligneux.

Je recommençai, le 16 mai, ces expériences en mettant en pots de jeunes *Belladones* aussi comparables que possible provenant d'un semis fait sur couche chaude en janvier. Les plantules étaient alors peu développées, et avaient 3 à 4 centimètres de haut, avec 3 feuilles seulement. Les écrans étaient constitués par deux vases en verre, cylindriques, s'emboîtant l'un dans l'autre et maintenus à un écartement de 2 centimètres à l'aide de couronnes de liège. Ils mesuraient 40 centimètres de haut et le vase intérieur avait 20 centimètres de diamètre.

Je disposai ainsi une série de ces pots éloignés les uns des autres pour que leur ombre réciproque ne pût les atteindre; ils étaient ainsi dans les mêmes conditions d'éclairement. J'introduisis dans l'espace ménagé entre les deux cylindres une solution de bichromate de potassium permettant le passage des rayons les moins réfrangibles du spectre, c'est-à-dire, vert, jaune, orangé, rouge, infra-rouge; dans l'autre, une solution de sulfate de cuivre laissant seulement passer le bleu, l'indigo, le violet, l'ultra-violet. Dans un troisième vase, je disposai de l'eau pure pour réaliser une atmosphère semblable à celle des deux autres, car la couche de liquide et de verre formant

isolant permettait une température plus élevée dans ces appareils qu'à l'extérieur.

Il y eut ainsi deux séries de ces expériences. Les vases furent fermés avec des bouchons de liège percés d'orifices permettant l'aération sans que la lumière puisse pénétrer, grâce à un système de tubes couverts de papier noir et disposés en chicanes. Un autre orifice spécialement aménagé permettait un arrosage quotidien empêchant l'atmosphère des vases d'être trop sèche.

Je constatai toujours une température légèrement plus élevée dans le vase renfermant la solution rouge; en moyenne, elle fut, vers les 3 heures de l'après-midi en fin de mai, de 45° au soleil, tandis qu'à l'extérieur elle était seulement de 32°. L'humidité qui régnait dans les appareils permit aux plantes de se développer rapidement sous l'action de cette chaleur intense.

Le 10 juin, j'enlevai les *Belladones* des bocaux et photographiai comparativement celles qui avaient poussé dans le bleu et dans le rouge (fig. 1 et 2, pl. V). La différence était accentuée dans le même sens dans le rouge et le bleu au point de vue morphologique que dans le cas du *Solanum Dulcamara*. Les premiers échantillons venus derrière l'écran au sulfate de cuivre étaient au stade de rosette; je les désignerai désormais par la lettre B (bleu). Les autres, venus derrière le bichromate, avaient une tige longue de 25 centimètres et seront indiqués, dans la suite de cet exposé, par la lettre R (rouge).

Les coupes figurées dans les planches VI et VII montrent des différences histologiques considérables. Les

parenchymes sont plus développés en B : les tissus secondaires ont des tissus ligneux peu différenciés; les parenchymes sont larges et abondants. En R (fig. 1, pl. VII), la tige est relativement dure, les assises secondaires très lignifiées et les cellules, petites, sont très serrées dans les assises chlorophylliennes.

La structure des feuilles est également intéressante à ce point de vue; les tissus palissadiques sont plus épais en R qu'en B. Quant à l'échantillon développé derrière l'écran d'eau, sa structure est celle d'une Belladone ayant

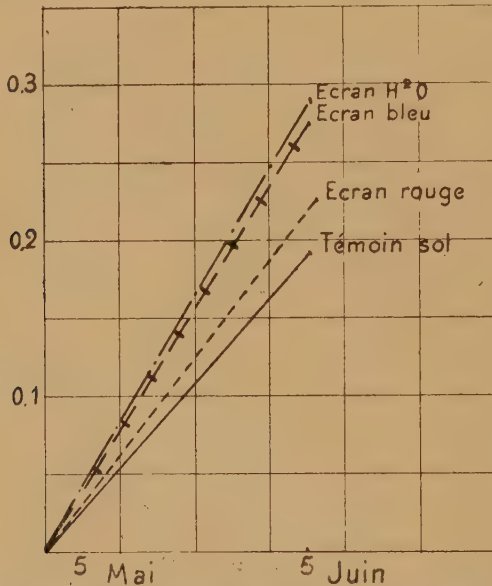


FIG. 4. — Variation des Alcaloïdes suivant les différentes variations solaires.

poussé vite dans un milieu humide et chaud; ses parenchymes sont mous et sa structure est intermédiaire entre R et B. Le témoin, venu en plein air (fig. 1 et 2, pl. VIII), est petit, ligneux et porte des feuilles souples et résistantes

d'un vert foncé, tandis que, en B, le vert est assez pâle ainsi qu'en R. Je remarquai que l'acide oxalique était abondant en B et en faible quantité en R. Il en était de même dans le cas de la Douce-Amère (fig. 1 et 2, pl. IV).

J'analysai ces différents échantillons pour connaître la teneur relative en alcaloïdes et je trouvai les chiffres consignés dans le tableau suivant et qui ont servi à établir la courbe (fig. 4).

Cette courbe et ce tableau nous montrent d'une façon très nette l'action accélératrice des rayons les plus réfrin-

TABLEAU N° 7. — Culture de Belladones de semis sous écrans.

NATURE DES ÉCHANTILLONS	TENEUR DES FEUILLES EN ALCALOÏDES	TEMPÉRATURE
Témoin venu à l'air libre.....	0,190 ‰	32°
Plante ayant poussé derrière un écran bleu.....	0,273 ‰	43°
Plante développée derrière un écran rouge.....	0,218 ‰	45°
Plante venue derrière un écran d'eau pure.....	0,286 ‰	45°

gents, c'est-à-dire de ceux qui ont la moins grande longueur d'onde. Ils semblent ainsi servir dans une grande proportion à l'édification ou à la transformation des alcaloïdes de la Belladone, mais d'autres facteurs interviennent constamment puisque dans le rouge il y a 0,218 % de ces corps, malgré l'absence de rayons très réfringents.

Ces faits montrent encore l'influence de la chaleur; la différence entre le témoin à l'air libre et la plante derrière l'écran d'eau est de $0,286 - 0,190 = 0,096$, et cette action semble bien due à la chaleur qui a pu accélérer nota-

blement les échanges vitaux. Dans ce cas, la plante végétant dans des conditions normales de vie possède les coefficients les plus élevés et a un taux alcaloïdique supérieur.

A la suite de ces expériences, je me trouvai dans la plus grande incertitude quant à la compréhension du phénomène de synthèse ou de désintégration des alcaloïdes. Je savais que dans certains cas, la lumière détruit les alcaloïdes formés à l'obscurité en trop grandes proportions pour les ramener à un taux d'équilibre normal; que, dans d'autres cas, certaines de ces conditions pouvaient favoriser ou ralentir cette formation.

Pour trouver à quel genre de radiations l'on devait attribuer ces phénomènes, j'entrepris l'expérience suivante dont le but était d'obtenir des tiges à teneur alcaloïdique élevée par un développement à l'obscurité, puis de les soumettre à l'action des différentes radiations solaires, et de doser avant et après le taux en alcaloïdes. Je fus favorisé au mois de juin par un temps exceptionnellement chaud; la terre n'était pas encore desséchée et permettait un développement rapide des repousses.

Au 1^{er} juin, je coupai au ras du sol des Belladones dont les premières pousses étaient en fruit. Je disposai sur ces souches les écrans, créant une obscurité totale. Le 25 juin, les pousses étaient suffisamment développées pour pouvoir être utilisées; elles mesuraient 30 centimètres de haut et portaient des feuilles minces et longues. Elles étaient totalement étiolées, à part un très léger pigment violacé à la base. La teneur en alcaloïdes de

ces feuilles étiolées était alors de : 1,487 %, et seulement de 1,320 % dans les tiges.

Les témoins coupés le 1^{er} juin dans les mêmes conditions, mais développés à l'air libre pendant le même temps, ne dosaient que 0,852 % pour les feuilles et 0,784 % pour les tiges.

L'augmentation due à l'absence de lumière est encore plus prononcée que dans les autres cas, et nous voyons, comme je le signalais à la page 5, l'influence de cette température élevée du mois de juin sur la production des alcaloïdes. Le 26 juin, de très bonne heure, je coupai des tiges étiolées, au ras des souches, à l'aide d'un rasoir, pour avoir une section offrant un maximum d'absorption. J'introduisis des lots égaux de ces tiges dans les bocaux à double paroi qui m'avaient servi dans l'expérience précédente et qui contenaient les mêmes solutions. Au fond du bocal je versai une quantité d'eau distillée permettant aux tiges maintenues droites à l'aide d'un treillis de fil de fer d'y plonger leur extrémité de 3 ou 4 centimètres; cette eau entretenait dans l'atmosphère des cloches une humidité très favorable à une bonne conservation et à une accélération des échanges vitaux.

Je fis trois lots : le premier, que j'appellerai A, comprenait les Belladones placées derrière l'écran d'eau pure; le second B, formé par celles qui étaient situées derrière l'écran de bichromate de potassium; le troisième C, composé de celles qui étaient disposées derrière la solution de sulfate de cuivre. A côté de ceux-ci, j'installai un bocal D, rempli d'eau distillée dans laquelle

trempait un quatrième lot de tiges étiolées ; celles-ci étaient donc exposées à l'action directe des rayons solaires traversant l'atmosphère ambiante. Je remis à la lumière ce même matin un cinquième lot E de plantes étiolées, tout en gardant quelques-unes de celles-ci à l'obscurité comme témoin F. Les échantillons du cinquième et du sixième lots conservaient une vie normale quant à l'apport d'aliments azotés et autres provenant des racines et du sol. Je laissai ces plantes dans les bocalux pendant 10 jours, c'est-à-dire du 26 juin au 6 juillet ; j'aurais bien poussé plus longtemps l'expérience, mais à ce moment les plantes du lot B commençaient à se flétrir par suite de la chaleur intense. Celles des lots A et C se conservèrent parfaitement et, quand je les retirai, elles étaient encore très turgescentes mais cassantes. Elles avaient toutes plus ou moins reverdi ; le vert le plus intense était atteint en A ; en B, il était presque normal ; mais, en C, il était plus pâle.

La température dans les cloches, que j'ai notée chaque jour à 15 heures, fut en moyenne de 14° supérieure à celle de l'air ambiant qui dépassa un certain jour 50° au soleil. En même temps que je sortis les plantes des bocalux, je coupai les tiges des *Belladones* formant les lots E et F et je les portai à l'étuve où ils séchèrent rapidement à la température de 35°.

Avant d'examiner le détail des analyses, je dois dire que je recueillis l'eau distillée restant dans le fond des bocalux A, B, C et D, dans lesquels trempèrent les tiges, de façon à y recueillir les alcaloïdes qui auraient pu y

passer en solution. Ces eaux, dosées méticuleusement, ne donnèrent rien à l'essai physiologique, de même qu'à l'analyse quantitative; la réaction de VITALI fut négative. Donc, en aucun cas, il ne passa d'alcaloïdes dans l'eau.

J'ai consigné dans le tableau n° 8 le résultat des analyses alcaloïdiques des feuilles et des tiges, ainsi que les températures des différents bocaux.

TABLEAU N° 8

NATURE DES ÉCHANTILLONS		ALCALOÏDES %		TEMPÉRATURE
		FEUILLES	TIGES	
TÉMOINS	Rameaux poussés dans l'obscurité du 1 ^{er} au 26 juin.....	1,487	1,320	26°-30°
	Rameaux poussés à la lumière du 1 ^{er} au 26 juin.....	0,852	0,724	30°-35°
	Rameaux restés à la lumière du 26 juin au 6 juillet.....	0,874	0,738	30°-35°
F	Rameaux restés à l'obscurité du 26 juin au 6 juillet.....	1,502	1,337	26°-30°
A	Rameaux mis sous écrans d'eau du 26 juin au 6 juillet.....	0,933	1,219	45°
B	Rameaux mis sous écran rouge du 26 juin au 6 juillet.....	1,522	1,323	45°
C	Rameaux mis sous écran bleu du 26 juin au 6 juillet.....	1,121	1,281	43°
D	Rameaux mis dans l'eau à l'air libre du 26 juin au 6 juillet..	0,875	0,717	30°-35°
E	Rameaux remis à l'air libre, en pleine lumière et en terre, du 26 juin au 6 juillet.....	0,914	0,725	30°-35°

De l'examen de ce tableau, il ressort que, comme dans l'expérience de la page 69, la teneur en alcaloïdes a baissé après retour à la lumière, mais non uniformément.

La diminution, pour le lot E, est de $1,487 - 0,914 = 0,573$ % pour les feuilles et de $1,320 - 0,725 = 0,595$ % pour les tiges.

Pour le lot D, elle est de $1,487 \div 0,875 = \mathbf{0,612\ \%}$ pour les feuilles et de $1,320 \div 0,717 = \mathbf{0,603\ \%}$ pour les tiges.

Pour le lot A, elle est de $1,487 \div 0,933 = \mathbf{0,454\ \%}$ pour les feuilles et de $1,320 \div 1,219 = \mathbf{0,101\ \%}$ pour les tiges.

Pour le lot C, elle est de $1,487 \div 1,121 = \mathbf{0,366\ \%}$ pour les feuilles et de $1,320 \div 1,281 = \mathbf{0,039\ \%}$ pour les tiges.

Pour le lot B, il y a une augmentation de $1,522 \div 1,487 = \mathbf{0,035\ \%}$ chez les feuilles et de $1,323 \div 1,320 = \mathbf{0,003\ \%}$ chez les tiges.

La courbe (fig. 5) traduit ces résultats pour les alcaloïdes de la feuille et la courbe (fig. 6) en fait autant pour la tige.

Nous constatons qu'en B, c'est-à-dire chez la plante insolée par les radiations les moins réfrangibles, la teneur a légèrement augmenté, ce qui semblerait montrer que, par rapport aux alcaloïdes, la plante a continué à fonctionner comme à l'obscurité. Ceci n'a rien d'étonnant, car selon PFEFFER (12), « si on enlève les rayons du bleu à l'ultra-violet, en faisant passer la lumière au travers d'une solution jaune rouge de bichromate de potassium, la plante verdit, mais sa forme est sensiblement la même qu'à l'obscurité ou avec une lumière très faible ». Mais nous avons vu qu'à l'obscurité les matières albuminoïdes augmentent en de fortes proportions, comme l'ont déjà observé BORODINE (13), SCHULZE (14) et O. MÜLLER (15). D'après eux, ces matières albuminoïdes ne pourraient être que des amides provenant de la dislocation des matières protéiques (16-17) et, sans la lumière, dans la généralité des cas, amides et aspara-

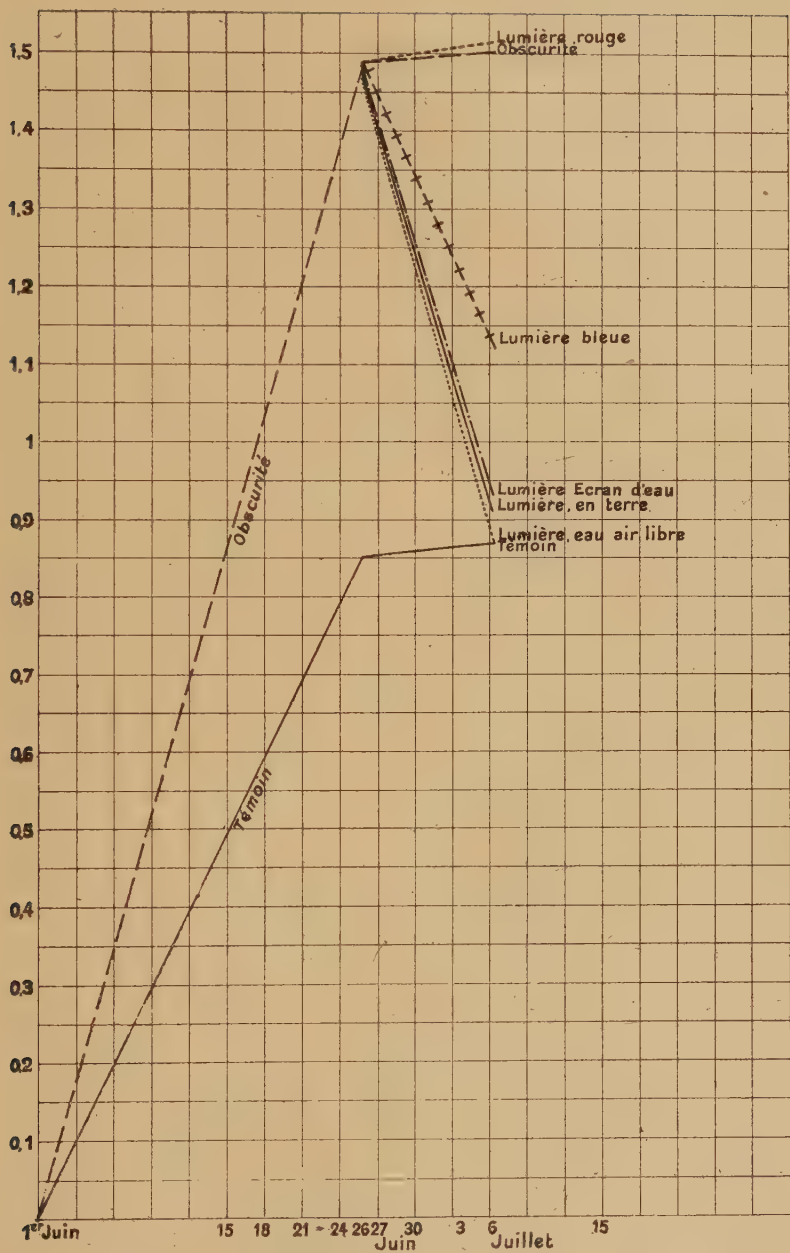


FIG. 5. — Variation des Alcaloïdes dans la feuille étiolée éclairée par différentes radiations.

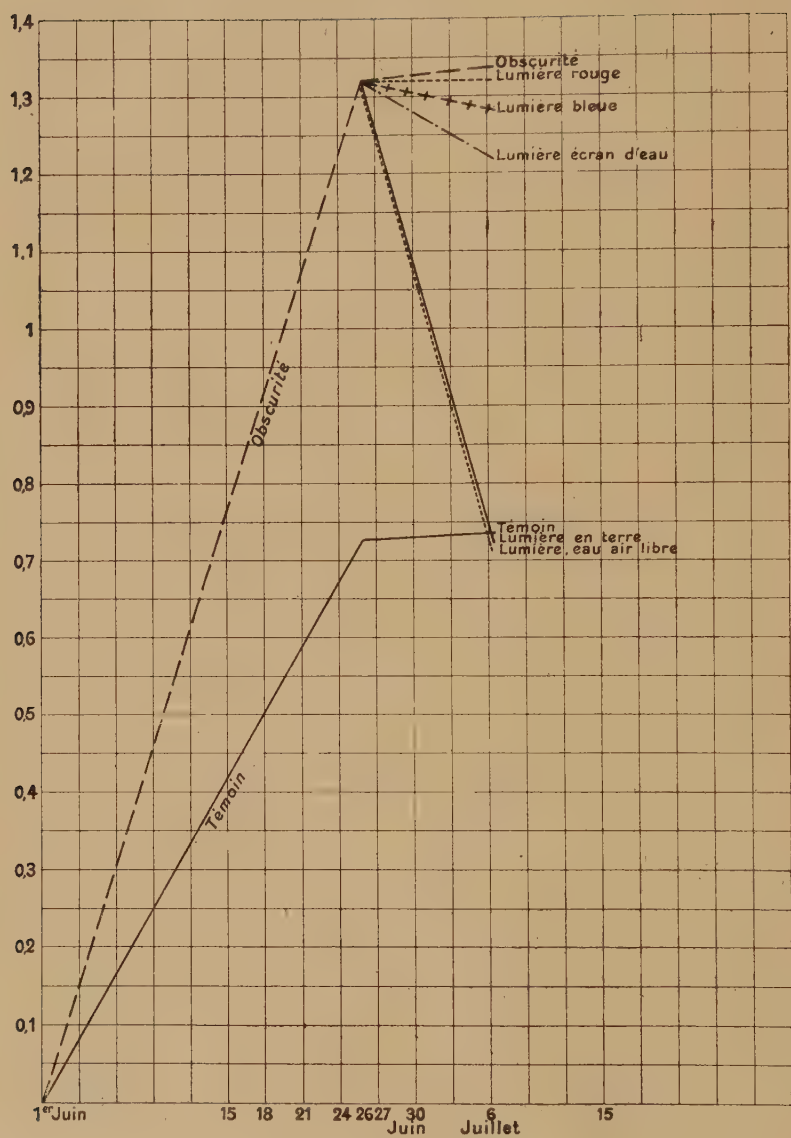


FIG. 6. — Variation des Alcaloïdes dans la tige comme dans les conditions de la fig. 5.

gine seraient incapables de s'incorporer les hydrates de carbone nécessaires pour réaliser la synthèse encore problématique des matières, de l'albumine (SUZUKI (18), KINOSCHITA (19), HANSTEEN (20), M^{lle} MALINIAK (21) et PRIASCHNIKOW (22).

D'autre part, nous savons par les expériences de LAURENT (23) que les rayons les moins réfrangibles ne permettent pas la décomposition des nitrates, base de la formation des amides, corps intermédiaires de la synthèse de l'albumine. Ainsi, à l'obscurité, la plante vit sur son stock de matières albuminoïdes assimilables qu'elle puise dans sa racine qui en est abondamment pourvue. Elle mettrait en liberté, comme déchets provisoires, ces amides que nous dosons dans les tiges et feuilles. Les alcaloïdes seraient alors des déchets définitifs d'une autre sorte, provenant également de la désintégration de l'albumine. Seront-ils récupérés, transformés en matières assimilables à la lumière? C'est peu probable; sans doute, par un processus encore inconnu, ils disparaissent jusqu'à un stade d'équilibre permettant la vie normale; et, en attendant leur dissociation, ils s'accumulent dans les cellules épidermiques et autres; ils se comportent comme les cristaux d'oxalate de calcium qui peuvent, eux aussi, être éliminés ou rester à l'état inerte dans des cellules spéciales.

En C, la plante recevant les rayons les plus réfrangibles, la vie est redevenue presque normale, et, d'après PFEFFER (24), si la nutrition est assurée, la vie et les phénomènes de croissance se produisent comme dans

une lumière complète, un peu affaiblie. En effet, la diminution est moins intense qu'en mars où la plante recevait toutes les radiations solaires mais atténuées par deux épaisseurs de verre et une couche d'eau; l'on sait qu'un tel milieu retient une partie importante des rayons ultraviolets les plus actifs quant à la synthèse des albuminoïdes et à la réduction des nitrates, ainsi que le montrent les expériences de M. GAUDECHON (25) et celles de LAURENT (26).

En D, où la lumière pouvait agir avec toute son intensité, la diminution est la plus prononcée de tous les cas examinés, dans les feuilles et dans la tige, car dans les bocalux fermés la transpiration était assez faible. La circulation dans la tige n'a pas été abondante, d'où ralentie de ses cellules et les variations faibles que j'ai constatées.

Au contraire, en B, elle est aussi grande dans les feuilles que dans la tige, organe principal de la circulation. D'ailleurs, ici, la consommation en aliments de toutes sortes, quoique la transpiration fût moins élevée, fut beaucoup plus importante que dans les bocalux. En effet, des expériences citées à la page 69, dans lesquelles j'avais élevé les plantes dans des bocalux colorés contenant de la terre au lieu d'eau distillée, il était logique que dans la plante normalement nourrie il y eût plus de déchets. En B, c'est le contraire; j'élevais la température, mais je réduisais l'évaporation et les phénomènes de chimiosynthèse par une grande humidité et par des écrans de verre; en outre, je supprimais toute alimentation minérale, azotée ou autre.

Il est facile de comprendre encore que, en A et en B, les rayons ultra-violets étant nuls ou atténués, la disparition des alcaloïdes se soit effectuée lentement et ait été contrebalancée dans une très petite mesure par la formation d'alcaloïdes nouveaux provenant des échanges nutritifs. Pour les Belladones remises à la lumière en pleine terre, les aliments continuant à parvenir dans la plante, elles ont pu fournir de nouvelles quantités d'albunoïdes qui, désintégrés, disloqués, donnèrent des alcaloïdes. Ceux-ci, au fur et à mesure de leur formation, étaient détruits par les rayons ultra-violets, mais leur synthèse restant plus intense que leur désagrégation, la teneur en E était ainsi tout naturellement plus élevée qu'en D.

Ces faits semblent justifier l'hypothèse que CLAU-TRIAU (27) a formulée par pure intuition, selon laquelle il y aurait dans la plante deux stades bien distincts quant à l'évolution des alcaloïdes : un stade de production et un de destruction, ces deux phénomènes pouvant être simultanés. La quantité d'alcaloïdes existant à un moment donné serait une résultante représentant la différence entre la quantité d'alcaloïdes qui a été formée et celle qui a été détruite.

M. GORIS (28) a commenté cette hypothèse et ajouté : « Aussi longtemps que le développement est intense, l'alcaloïde ne diminue pas puisque ce sont les endroits de grande croissance qui sont par excellence le lieu de formation de ces corps. Après la floraison ou la fructification, lorsque la croissance se ralentit ou s'arrête, la

plante ne cesse pas pour cela de vivre et peut continuer son travail de destruction pendant un temps plus ou moins long.

» Ceci peut être vrai et constitue l'un des arguments le plus sérieux pour ceux qui considèrent les alcaloïdes comme des substances nutritives ».

Pourtant la non variation des alcaloïdes dans les organes souterrains, comme la racine de Belladone, ne lui permet plus de déterminer nettement le rôle de déchet ou d'aliment. Pourquoi voir dans cette disparition des alcaloïdes après la maturation du fruit une utilisation comme aliment ? S'il en était ainsi, la plante en aurait eu besoin au même titre que de toutes ses réserves lors de la fructification. Leur disparition est due, me semble-t-il, à un phénomène de dissociation, sous l'influence des rayons les moins réfringents. Ces corps disparaîtraient ainsi soit à l'état d'azote dans l'atmosphère, soit sous une autre forme que mes expériences n'ont pas permis de préciser. Je me propose de reprendre ultérieurement ces recherches.

Néanmoins nous pouvons déjà nous rendre compte que cette perte sous forme d'azote est bien due à un phénomène de désassimilation. M. LUTZ (29) dans ses expériences de nutrition des Phanérogames à l'aide d'alcaloïdes a constaté une perte d'azote gazeuse, qui semblait due à un phénomène de désassimilation. Mais on ne peut attribuer cette perte seulement aux alcaloïdes. CLAUTRIAU (30) a fait la même remarque et montré qu'elle touchait autant les albuminoïdes et les nitrates que les

alcaloïdes. D'ailleurs, elle peut être encore mise en évidence chez des plantes qui ne fabriquent pas d'alcaloïdes et auxquelles on ne fait pas absorber ces substances.

Or les expériences de MM. CIAMÍCIAN et RAVENA (31) ont démontré, d'une façon rigoureuse, que sous l'action des enzymes contenues dans de la pâte d'épinard, les alcaloïdes subissent largement l'oxydation et disparaissent ainsi des milieux de culture. L'oxydation sous l'influence de la lumière ne leur donna aucun résultat, mais nous ne pouvons pas conclure de là que la lumière n'agit en aucun cas, car nous avons vu que la Belladone remise à la lumière subit une perte d'alcaloïde. Ces auteurs ont établi une sorte d'échelle de facilité d'oxydation et conclu que l'atropine est un des alcaloïdes le plus facilement oxydé d'où son élimination. A l'obscurité la respiration continue presque aussi intense qu'à la lumière; les oxydations normales se poursuivent également. Si la disparition des alcaloïdes était due à ces phénomènes normaux d'oxydation cellulaire, leur teneur n'augmenterait pas à l'obscurité. En présence des faits, je conclurai nettement à l'action de destruction des rayons les moins réfrangibles, agissant directement ou permettant le travail des enzymes végétales agissant sur la molécule alcaloïdique.

Il semblerait prématuré de conclure au rôle de déchet, mais les expériences relatées dans le chapitre suivant montreront la non-utilisation de ces corps dans les conditions normales de vie, non-utilisation relative à la destruction à la lumière des albuminoïdes qui sont assimi-

lés ou utilisés sous une des formes de l'énergie vitale. Ceci pourrait expliquer en outre la teneur alcaloïdique à peu près constante de la racine; celle-ci n'étant pas soumise aux radiations actives ne peut former des diastases, s'il y en a qui contribuent à la destruction des alcaloïdes. D'autre part, le poids et la valeur de la racine augmentant continuellement, les corps actifs se répartissent uniformément au fur et à mesure de leur formation. L'activité vitale de cet organe, quant à la décomposition des albuminoïdes, est constante, d'où la constance de sa teneur en déchets.

La croissance et la physiologie de la racine sont assez semblables chaque année, les conditions extérieures variant sensiblement peu pour elles. D'autre part, il a été démontré (32) que les amines peuvent être régénérées à l'obscurité, c'est-à-dire se transformer en matières protéiques assimilables dans des racines vivant à l'obscurité, et que celles-ci sont capables d'assimiler les nitrates. On peut conclure de là que le cycle vital des matières albuminoïdes est complet dans la racine, malgré l'absence de lumière.

En présence de ces faits, une expérience s'imposait, c'était d'exposer à la lumière des racines de Belladone et de voir ce que devenaient les alcaloïdes. En juin, je creusai autour de pieds commençant à fleurir une fosse circulaire de 30 c/m de profondeur, mettant en pleine lumière les grosses racines. Elles pénétraient dans le sol d'encore 15 c/m. au moins et pouvaient s'alimenter en eau et matières minérales. Je dosai une partie de ces

racines au début de l'expérience. Peu à peu les tiges et feuilles se flétrirent et commencèrent à tomber ; les racines se ramollirent, présentant tous les caractères physiologiques de la mort par manque d'eau.

Le 20 juillet, j'analysai néanmoins ces racines, souples au lieu d'être résistantes comme dans le cas normal. Je trouvai des différences insignifiantes, de l'ordre des variations que présentent deux racines saines. Je ne pouvais donc tirer de cette expérience aucune donnée précise.

Avant de clore ce paragraphe, je signalerai un fait qui semble confirmer ces idées. Quand je remis à la lumière, le 5 juin, les pousses venues à l'obscurité, elles souffrirent longtemps de ce brusque changement de vie. Une d'entre elles avait pris dans la caisse une position horizontale, parallèle au sol. La lumière la frappa directement à sa face supérieure ; seule la face inférieure, végétant dans une lumière atténuée, put reprendre sa vie normale plus lentement et se développer progressivement. La localisation microchimique, à la sortie de l'obscurité, présentait une symétrie radiale très accusée ; mais, après quelques jours d'insolation, la partie supérieure ne contenait plus d'alcaloïde alors que l'inférieure, déjà dorsiventrale anatomiquement, en était bourrée. Que pouvons-nous conclure de cela ? La partie supérieure avait été presque tuée par un éclaircissement intense et brutal ; les alcaloïdes furent détruits au début par le processus indiqué ci-dessus. La tige, en cet endroit, n'en reforma pas de nouveaux, sa vitalité étant réduite à néant par la dessiccation, comme l'indique la figure 1 de

la planche IX. Dans la partie inférieure, centre de vie active, la destruction fut atténuée par l'absence de lumière directe, il y eut une production abondante d'alcaloïdes par suite de phénomènes d'assimilation d'albuminoïdes nouveaux. La structure anatomique montre cet arrêt de développement dans la partie supérieure (fig. 1, pl. IX, à gauche), parallèle à une production de tissus secondaires abondants dans la partie inférieure (fig. 1, pl. IX, à droite et fig. 2, pl. IX). Ceci n'est pas en contradiction avec la dorsiventralité alcaloïdique exposée page 17; dans la vie normale les échanges sont plus ralentis du côté le moins éclairé; la dorsiventralité anatomique (fig. 2, pl. II) le met en évidence. De là une quantité d'alcaloïdes plus grande du côté le plus éclairé, la production y dépassant la destruction.

Mes cultures à l'obscurité sont en opposition complète avec l'hypothèse de M. Charles LAURENT (33) sur la formation exclusive des alcaloïdes dans les parties vertes et surtout dans les feuilles. Il en est de même de son hypothèse relative au rôle d'aliment basée sur la légère diminution alcaloïdique dans la racine principale au moment de la formation des racines secondaires. D'ailleurs M. GORIS (34) en a démontré l'inexactitude.

III. — Expériences de décortication annulaire.

CLAUTRIAU (35), lors de son séjour à Java, pratiqua une série d'annélations sur le Thé et le Café. Ces expériences lui permirent d'établir le rôle de déchets de la caféine. L'incision annulaire ou décortication consiste en l'enlè-

vement d'un morceau circulaire d'écorce, au sens ancien du mot, atteignant le cambium et produisant des modifications physiologiques profondes. Elle supprime dans la tige, sans liber médullaire, le courant descendant de sève élaborée conduisant dans les parties inférieures les principes complexes dus au phénomène de l'assimilation chlorophyllienne et autres.

Dans la partie supérieure à la décortication, l'amidon s'accumule; en effet, les sucres, ne pouvant descendre, se trouvent en abondance dans les cellules; il y a dès lors augmentation de la pression cellulaire qui s'abaisse, d'après les lois de PFEFFER, par une polymérisation du glucose en saccharose d'abord, puis en amidon, produit insoluble réduisant automatiquement la turgescence.

Il en est de même des matières albuminoïdiques qui s'accumulent dans les feuilles. Que deviennent les alcaloïdes ? CLAUTRIAU établit que, pour des tiges annelées de caféier, il y a diminution de la caféine dans les parties supérieures. A l'obscurité, il y a une légère augmentation. A la lumière, au contraire, en milieu privé d'anhydride carbonique, une importante accumulation de caféine se produit et l'azote albuminoïdique est consommé. Il en conclut que les alcaloïdes sont des déchets provenant de la désintégration des matières protéiques.

La suppression du liber ne permet donc plus à la caféine d'émigrer vers la partie inférieure. Et si elle diminue dans les parties supérieures parallèlement aux albuminoïdes, cela montre que l'alcaloïde ne servirait pas à leur édification et l'on doit supposer, à la suite de

mes expériences sur la disparition de l'atropine à la lumière, que, chez le caféier, il y a également une décomposition des alcaloïdes, sous une forme inconnue, probablement gazeuse.

En 1920, je tentai de nombreuses décortications annulaires à différentes hauteurs, sur différentes branches et je trouvai la localisation microchimique relatée à la page 31. Je dosai comparativement les feuilles venues sur des tiges décortiquées et sur des tiges normales. J'observai une légère augmentation de la teneur alcaloïdique foliaire à la suite de la décortication. Le tableau suivant l'indique.

TABLEAU N° 9. — Analyses des feuilles de Belladones.

NATURE DES ÉCHANTILLONS	DATES DES ANALYSES	POURCENTAGES	AUGMENTATION
Plante témoin.....	15 mai	0,354	
— —	25 juillet	0,381	
Plante décortiquée.....	25 juillet	0,437	0,046

Je recommençai des décortications, en 1921, sur de jeunes Belladones de semis présentant des racines au même état biologique et sensiblement comparables ; je voulais savoir ce qui se passait en elles et si les alcaloïdes qui s'y trouvaient provenaient des parties supérieures ou étaient formés sur place. J'attendis que les tiges aient atteint une certaine hauteur ; quand ils sont trop jeunes, les tissus ligneux ne sont pas assez résistants ; ils sont sectionnés lors de l'incision ; la plante, même tuteurée, casse au moindre coup de vent.

Au 10 juin, j'enlevai sur des jeunes tiges de 20 centimètres de haut un anneau d'écorce, situé à 2 centimètres au-dessus du collet, ayant une largeur de 1 centim. 5. Malheureusement, chez les Solanées, l'existence d'un liber interne trouble le phénomène; il permet la descente de produits élaborés, dans une petite proportion il est vrai, mais suffisante pour que l'interruption ne soit plus absolue. Néanmoins, je trouvai, comme en 1921, une augmentation du pourcentage alcaloïdique des feuilles. La tige décortiquée avait une teneur légèrement moindre que la tige témoin. Quant aux racines, les taux étaient semblables à peu de chose près. Le tableau n° 10 et la courbe (fig. 7) résument ces différents chiffres.

TABEAU N° 10. — Décortication de Belladones de un an

NATURE DES ÉCHANTILLONS	DATES	ALCALOÏDES		
		Feuilles	Tiges	Racines
Plante témoin.....	10 juin	0,182 %	0,129 %	0,095 %
— —	7 juillet	0,210 %	0,172 %	0,260 %
— décortiquée	7 juillet	0,263 %	0,134 %	0,274 %

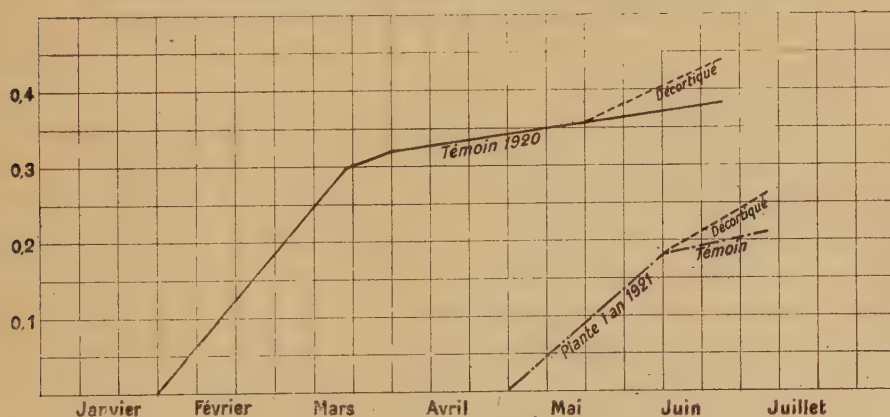


FIG. 7 — Variation des Alcaloïdes dans la Belladone décortiquée en 1920 et 1921.

De cette augmentation dans les feuilles nous pouvons conclure, après examen de la racine, que, dans celle-ci, les alcaloïdes se forment en partie sur place, soit à l'aide des substances fournies par les parties supérieures, soit élaborées directement; après l'incision, la grande majorité était produite certainement ainsi. Dans la tige, ils s'accumulent au niveau de la blessure, sans doute à la suite du travail de cicatrisation, ou bien la sève élaborée s'accumulant dans ce pseudo-bourrelet, les échanges augmentent, les alcaloïdes aussi.

Je pense qu'il serait exagéré de conclure de ces faits à un courant descendant alcaloïdique par le liber. Si, autour de ces éléments, ils existent en abondance, cela provient de ce que les tubes criblés et autres amènent aux parties inférieures les aliments qui, consommés sur place, produisent alors des déchets alcaloïdiques. Il y a là une analogie frappante avec les cristaux d'oxalate de calcium ou de potassium qui abondent dans ces mêmes cellules périlibériennes.

Il semble anormal et assez inexplicable que la teneur alcaloïdique ait diminué dans les tiges alors qu'augmentent les matières albuminoïdes et autres. L'augmentation de la teneur dans les feuilles est logique; on sait depuis fort longtemps que la décortication annulaire active la fructification et le développement des parties situées au-dessus de l'incision, en leur fournissant une surabondance d'aliments permettant, si le milieu est propice, une consommation intense. Les deux planches X et XI montrent l'action de l'incision sur une *Belladone*

quant à la fructification ; les fruits, en moyenne, sont plus gros et leur nombre s'est accru. Pour les feuilles, dans ces conditions, le facteur de destruction n'a pas changé; le facteur d'augmentation ayant seul varié, rationnellement l'équilibre a été détruit et la teneur a augmenté.

Cette accumulation, peu importante il est vrai, mais notable quant à son application dans l'industrie, est susceptible d'applications pratiques si les graines des plantes décortiquées conservent les caractères morphologiques et physiologiques des parents, c'est-à-dire une teneur alcaloïdique plus grande.

L'étiollement et le développement des plantes à l'obscurité ou à demi-obscurité produisent une augmentation appréciable des alcaloïdes qui va du simple au double dans la moyenne des cas. Il est visible, sans longue démonstration, quel intérêt il y aurait à se servir de ces plantes quant à l'extraction des principes actifs :

1° La présence de chlorophylle gêne beaucoup la purification des alcaloïdes; dans la plante étiolée, il n'y en a plus;

2° Le traitement d'une certaine quantité de plantes séchées demande, quelle que soit la quantité d'alcaloïde contenue, un volume déterminé de solvant (alcool à 90° ou éther); il en résulterait une grande économie de ces produits pour l'extraction d'un même poids d'alcaloïdes;

3° Les questions de manutention, séchage, broyage, demandent beaucoup de temps et de grands locaux; elles

seraient simplifiées par ce procédé qui exigerait une moindre quantité de matières sèches à manipuler.

Nous devons examiner également l'autre côté du problème : la culture des Belladones à l'abri de la lumière est-elle réalisable pratiquement ? J'en suis convaincu, car ce n'est plus qu'une question de mise au point. Je puis affirmer dès maintenant que l'obtention des tiges étiolées provenant de racines de un ou deux ans est très facile en suivant la technique employée par les producteurs de plantes étiolées (36).

Cette année, je me propose d'étudier ce problème et d'examiner les rendements comparés en feuilles et en tiges fraîches, venues à la lumière et à l'obscurité.

CONCLUSIONS DU CHAPITRE III

Des faits que je viens de rapporter, il ressort que :

1° Les alcaloïdes augmentent à l'obscurité parallèlement aux matières albuminoïdes;

2° Ils disparaissent à la lumière jusqu'à un certain stade d'équilibre de la plante normale;

3° Cette disparition serait due aux rayons les plus réfrangibles du spectre solaire;

4° La chaleur favorise leur formation;

5° Une transpiration intense active leur disparition;

6° Ils augmentent dans les feuilles à la suite de la décortication annulaire.

BIBLIOGRAPHIE DU CHAPITRE III.

(1) CLAUTRIAU, *Nature et significations des alcaloïdes végétaux* (loc. cit., p. 69).

(2) LOTZY, *De localisatie van het alcaloïd in Cinchona Calisaya Ledgeriana wedd. en in Cinchona Succirubra* (Mededeelingende Laboratoria der Gouvernment's Kinaonderneming, Batavia, 1898).

(3) TUNNMAMM et JENZER, *Pharmakognostische untersuchungen über die Pilocarpus pennatifolius und Erytroxylon coca mit besonderer Berücksichtigung ihrer Alkaloïde* (Schweiz. Woch. F. Chem. U. Pharm., 48-17-24-1910).

(4) Dictionnaire, *Encycl. des Sciences médicales*, article quinquina, 1869.

(5) PFEFFER, *Physiologie végétale* (loc. cit., p. 100, t. II).

(6) PFEFFER, loc. cit., p. 233, 35, 239.

(7) BONNIER et MANGIN (Ann. des Sc. nat., 6^e série, vol. 17, p. 231 et, 1886, 2^e série, vol. 3, p. 14).

(8) PALLADINE (Rev. Génér. de Bot., 1893, vol. 5, p. 369).

(9) BORODINE (Bot. Jahresh., 1873, p. 920).

(10) WIESNER, *Über die Einfluss d. Lichtes. V. D. Strahlenden Warmer auf die Transpirat.* (1873, p. 21).

(11) PFEFFER, loc. cit., p. 231, t. I.

(12) PFEFFER, loc. cit., p. 120, t. II.

(13) BORODINE (Bot. Zeit., 1878, p. 801).

(14) SCHULZE (Landwirth. Jahr., 1878, vol. 2, p. 420, et 1880, vol. 9, p. 15).

(15) MÜLLER, *Versuchsstat* (1877, vol. 33, p. 327).

(16) PFEFFER, loc. cit., p. 472, t. I.

(17) PRIASCHNIKOW, *La synthèse des corps aminés* (Rev. Génér. de Botanique, 1913).

(18) SUZUKI, *On the formation of asparagine in plants under different conditions* (Bull. of College of agricult., Tokio, vol. 2, n° 7, 1895).

(19) KINOSCHITA, *On the consumption of asparagine in the nutrition of plants* (Bull. of Agricult. College, Tokio, vol. 2, n° 4, 1895).

(20) HANSTEEN, *Über Eiweis synthesein grünen Phanerogaren* (Jahrbucher für Wissensch. Botan., 1899, B. 33, heft 3).

(21) MALINIAK, *Recherches sur la formation des matières protéiques à l'obscurité dans les végétaux supérieurs* (Rev. Génér. de Botanique, 1900).

(22) PRIASCHNIKOW, *Eiweisszerfall u. Eiweissbildung in d. Pflanzen* (Verl. mittheil. d. deutsch. Gesellsch., 1899).

(23) LAURENT (Bulletin Acad. Roy. Belgique, 1896, série 3, vol. 32, p. 815).

(24) PFEFFER, *loc. cit.*, p. 120, t. II.

(25) GAUDECHON et BERTHELOT (Journ. de Pharm. et Chimie, 1910).

(26) LAURENT, *loc. cit.*, p. 130.

(27) CLAUTRIAU, *Nature et signification des alcaloïdes* (*loc. cit.*, p. 69).

(28) GORIS, *loc. cit.*, p. 237.

(29) LUTZ, *Recherches sur la nutrition des végétaux à l'aide de substances azotées de nature organique* (Thèse de Doct., 1898, et Bull. Soc. bot. de France, 4^e série, 3, 1903, p. 118, et 5^e série, 1905, p. 201) (C. R. A. Sc., 126-1227-1898, et Annales des Sc. nat., 7-1899).

(30) CLAUTRIAU, *loc. cit.* (Rec. Inst. Bot. Erréra, 2-253-1906).

(31) CIAMICIAN et RAVENA (C. R. A. Sc., 2 nov. 1920, et Annales des Sciences de Chimie, t. XII, 9^e série, 1919, p. 5).

(32) Botanical Central Blatt (1891, vol. 45, p. 379).

(33) Charles LAURENT, *Etude sur les modifications que peut amener la greffe dans la constitution des plantes* (Thèse de Docteur ès Sciences, Paris, 1908).

(34) GORIS, *loc. cit.*, p. 195.

(35) CLAUTRIAU, *loc. cit.*, p. 80.

(36) Jean RIPERT, *Sur la biologie des alcaloïdes de la Belladone* (C. R. Ac. des Sc., 14 novembre 1921).

CHAPITRE IV

L'ALCALOÏDE JOUE LE RÔLE DE DÉCHET

I. — Généralités.

A diverses reprises, au cours de ce travail, nous avons été amené à envisager les alcaloïdes comme substance de déchet, mais sans en donner une preuve irréfutable. Or, aucun auteur n'a jusqu'ici démontré que, dans les plantes vivant normalement, ces corps soient des substances plastiques ou des corps de réserve. Les expériences de nutrition des Phanérogames à l'aide d'alcaloïdes donnent lieu à une si faible assimilation qu'elles ne permettent pas de conclure à leur rôle d'aliment.

Nous ne connaissons pas les phénomènes qui permettent à ces corps de pénétrer dans la racine à la hauteur des poils absorbants; peut-être y sont-ils décomposés en matières assimilables plus simples, mais rien ne le montre; sont-ils là des aliments exceptionnels entraînés avec les aliments minéraux dans le torrent circulatoire? Si, par une série d'expériences, on pouvait faire augmenter les alcaloïdes alors que tous les différents facteurs biologiques sont normaux, toute nutrition minérale ou gazeuse étant supprimée, on prouverait alors leur rôle de déchet.

CLAUTRIAU (1) a réalisé ces conditions par des annulations de plantes placées en milieu privé de gaz carbonique, mais la décortication étant un agent perturbateur modifiant intensément la vie normale, il ne pouvait conclure d'une façon absolue comme il l'a fait, au rôle de déchet. Ayant fait vivre des tiges de *Cofea arborica* en liquide de Sachs avec ou sans nitrate de potassium et constatant une légère augmentation, il ne croit pas à leur provenance des matières protéiques qui diminuent, mais cet abaissement des albuminoïdes serait dû à un accroissement du pourcentage de la matière sèche. Il opérerait de même en plongeant des rameaux de *Thea sinensis* non décortiqués dans des cristallisoirs renfermant un liquide nutritif de Sachs avec ou sans nitrate d'ammoniaque; la plante ayant l'alimentation minérale nécessaire à sa vie continuait à se développer normalement; il trouva que le nitrate d'ammonium n'amenait aucune augmentation sensible de la teneur en alcaloïdes. Or, nous savons que dans le cycle de formation des corps quaternaires, la décomposition des nitrates et leur incorporation aux amides et aux hydrates de carbone sont la base de la synthèse des albuminoïdes. Donc, si les alcaloïdes sont un intermédiaire entre les amides et albuminoïdes sous l'action du nitrate d'ammoniaque, ils seront transformés en matières protéiques, si les facteurs énergétiques nécessaires, lumière et anhydride carbonique, sont à la portée du végétal. CLAUTRIAU conclut, dans le cas particulier de la caféine, au rôle de déchet des alcaloïdes qui se trouveraient ainsi sur le chemin de la dégradation des albuminoïdes.

Il eût été intéressant de mettre les tiges de *Thea sinensis* dans l'eau distillée, sans alimentation de quelque nature que ce soit. La plante, dans ce jeûne absolu, aurait peut-être pu utiliser les alcaloïdes. J'ai fait des expériences de ce genre pendant deux années de suite et j'ai trouvé des résultats qui me paraissent très démonstratifs.

Avant d'entrer dans le détail de mes expériences, il est utile d'envisager la théorie de M. LUTZ (2). Cet auteur admet que les alcaloïdes sont des déchets conditionnels parce que, dans ses expériences de nutrition à l'aide des alcaloïdes, il a constaté que l'azote minéral agit comme une sorte d'agent d'entraînement vis-à-vis de l'azote alcaloïdique, et parce que la présence simultanée de ces deux catégories de composés est nécessaire pour que l'alcaloïde puisse servir à la nutrition des plantes. « Il y aurait ainsi, dit-il, une certaine analogie entre les alcaloïdes et l'asparaginé, cette dernière pouvant prendre naissance aux dépens des matières albuminoïdes ou les régénérer par un phénomène inverse au contact d'un excès d'hydrate de carbone. S'il y a pénurie de ces dernières substances, la reconstitution des alcaloïdes est entravée et l'asparagine s'accumule dans les tissus ». De même les alcaloïdes seraient incapables de se transformer en substances protéiques autrement qu'en présence d'un excès de matières minérales azotées. Ils constitueraient ainsi une sorte de moyen terme entre la matière minérale azotée, et les albuminoïdes dont l'utilisation est subordonnée à un afflux d'azote minéral. Il ajoute plus loin : « Les partisans de l'alcaloïde substance

de déchet envisageant l'alcaloïde non comme une substance directe de l'assimilation, mais comme une substance dérivant de la désintégration des albuminoïdes qui se produit fatalement au cours de l'activité cellulaire, ne sont nullement en contradiction avec la théorie de LUTZ; de même que l'asparagine peut résulter et résulte souvent d'une désintégration de molécule d'albuminoïde, de même l'alcaloïde peut dans la cellule végétale reconnaître une même origine. Cela n'implique pas qu'une fois formés ils doivent rester indéfiniment en dehors du cycle de la nutrition; tout comme l'asparagine est reprise dans des conditions déterminées et rentre en combinaisons albuminoïdiques de même dans certains cas également déterminés, l'alcaloïde peut rentrer à l'état de combinaison protéique et participer de nouveau à la constitution du protoplasma cellulaire ».

Et il ajoute encore : « Considérant la synthèse des substances quaternaires, qu'une condition artificielle interrompt la synthèse et l'arrête partiellement au terme d'alcaloïde ou qu'une désintégration de la molécule albuminoïde la fasse rétrograder vers ce terme, un fait néanmoins reste acquis : cet alcaloïde ne représente pas pour la plante un azote définitivement perdu; qu'on l'appelle déchet ou aliment occasionnel, ce n'est guère qu'une discussion portant sur la valeur des mots. Sur les faits les partisans des deux théories sont à l'heure actuelle à peu près d'accord ».

Je pense qu'il est inexact de concevoir ainsi le rôle de l'alcaloïde chez les Phanérogames et que rien n'autorise

à tirer de semblables conclusions. En effet, d'après M. LUTZ (3) lui-même, il n'a jamais pu faire assimiler d'alcaloïdes aux plantes Phanérogames, et il conclut que même le sulfate d'atropine ne peut servir de source d'azote à la plante. Bien mieux l'auteur constate que pendant le développement de graines baignées d'alcaloïde, au lieu d'un gain c'est une perte d'azote que l'on constate. Ce corps se dégage selon lui à l'état gazeux; cette perte d'azote serait due à un phénomène de désassimilation comparable jusqu'à un certain point à une autofermentation. La cause de ce phénomène doit être recherchée dans une végétation prolongée de la plante en un état de dénutrition azotée, et la perte d'azote semble être un des prodromes de la mort du végétal.

Néanmoins, il faut noter les expériences de M. COMÈRE (4) obtenant le développement total d'algues à l'aide d'alcaloïdes et celles de M. LUTZ, amenant celui de champignons. Mais nous ne devons pas oublier que les phénomènes d'assimilation sont dans ces cas profondément différents de ceux des Phanérogames.

De son expérience sur la culture de branches en milieu azoté ou non, sous cloches contenant du gaz carbonique en abondance, CLAUTRIAU conclut ainsi : « La faible diminution que l'on constate semble bien prouver que la caféine ne constitue pas une réserve azotée pour la plante et ne représente pas un stade transitoire de l'assimilation de l'azote dans sa transformation en matières albuminoïdes. Au contraire elle semble plutôt provenir de la décomposition de ces matières albuminoïdes ».

En effet, en présence de nitrates et d'hydro-carbones en abondance et même de lumière, il aurait dû, d'après M. LUTZ, se former des albuminoïdes. Or cela n'est pas; ils ont même beaucoup plus diminué dans le milieu privé de nitrate. Ainsi l'hypothèse de M. LUTZ semble prématurée. Aucune expérience n'a permis de faire revenir l'alcaloïde dans le cycle de la nutrition dans des cas où il aurait dû le faire, les conditions les plus favorables se trouvant réalisées, quant à l'apport d'énergie et d'azote de toute sorte.

Les décortications annulaires de CLAUTRIAU en milieu privé de gaz carbonique montraient que l'alcaloïde augmentait pendant que les albuminoïdes diminuaient. De même comment expliquer alors que dans des cultures de branches de *Thea sinensis* en liquide nutritif, avec ou sans nitrate, CLAUTRIAU ait constaté l'augmentation des alcaloïdes avec les nitrates alors qu'ils diminuâient sans ceux-ci ?

Nous pouvons donc conclure que pour les Phanérogames, dans tous les cas jusqu'ici envisagés, l'alcaloïde présente pour la plante une perte d'azote, bien faible d'ailleurs dans la molécule si dense. Il existe bien des déchets de toutes sortes dans la plante; pourquoi n'y en aurait-il pas d'azotés, l'animal en fournissant bien ? Ceci posé, voici le détail de mes expériences.

II. — Cultures dans l'eau distillée.

Le 9 juin 1920, je coupai au ras du sol des Belladones en pleine floraison; aucun fruit n'étant encore formé.

J'introduisis rapidement l'extrémité inférieure des tiges dans des bocaux de 4 litres remplis de 500 centimètres cubes d'eau distillée; ces flacons étaient entourés d'un manchon de papier noir les abritant de la lumière, pour empêcher de développement d'algues, qui aurait pu venir troubler les conditions de l'expérience. J'exposai ces vases sur le rebord de fenêtres orientées vers l'ouest que le soleil éclairait directement deux heures par jour en moyenne.

A la suite de la section de la tige, celle-ci pouvait absorber l'eau des bocaux avec un maximum d'intensité, les plantes vivant dans une atmosphère normale. L'évaporation fut très intense, d'où circulation abondante d'eau dans les tiges; l'assimilation chlorophyllienne continuait à jouer normalement, mais sans que les tiges apportent dans les parties vertes une matière saline quelconque, apte à de nouvelles synthèses; ainsi les hydrates de carbone pouvaient seuls continuer à se former. Aucune matière albuminoïde ne pouvait être constituée à nouveau, car leur source, c'est-à-dire les nitrates, ne se renouvelait pas, le milieu d'absorption en étant totalement dépourvu.

Donc, au cours de l'expérience, les matières albuminoïdes et alcaloïdes formées par le processus vital antérieur au sectionnement devaient être transformées, détruites ou assimilées. L'azote, mis ainsi en liberté, doit disparaître ou rentrer dans de nouvelles combinaisons et former peut-être des alcaloïdes. Dans ces conditions, si les alcaloïdes sont des aliments, leur poids ne

peut qu'augmenter; dans le cas contraire ils seront des déchets.

J'avais constaté microchimiquement la présence d'atropine et d'amidon au début de l'expérience; la localisation de ces substances était normale, telle que je l'ai indiqué page 19. L'analyse chimique donna pour les feuilles une teneur alcaloïdique de **0,336** %.

Au bout de 36 jours, je retirai les tiges des bocalx. Entre temps, j'avais cueilli toutes les feuilles sauf celles des extrémités. Les dosages portèrent sur les feuilles ayant vécu au moins 25 jours sur la tige. L'examen microchimique de la tige et des pétioles révélait une quantité d'alcaloïde au moins égale à la normale; il n'y avait plus aucune trace d'amidon dans l'endoderme et les rayons médullaires. Les chloroleucites restaient verts même après l'action de l'iodure de potassium iodé, ce qui montrait que la tige commençait à mourir.

Les témoins restés dans le sol étaient en pleine fructification; le dosage de leurs feuilles donna **0,372** %. Les feuilles des tiges en expérience dosaient **0,491** %; il y avait ainsi une augmentation d'atropine de $0,491 - 0,336 = \mathbf{0,155}$ %.

J'ai recommencé les mêmes expériences en 1921 dans des conditions semblables, mais j'ai pris la plante à son début de végétation, c'est-à-dire lorsqu'elle est encore à son stade de rosette. L'expérience a duré du 24 mars au 20 mai; les feuilles se sont flétries au bout de plus d'un mois; le 1^{er} mai, elles étaient encore, pour la majorité, bien adhérentes à la tige et gorgées d'eau. Cette fois,

j'ai suivi les variations de la teneur en matières albuminoïdes et constaté une baisse notable de celles-ci, parallèle à une élévation du pourcentage alcaloïdique. Ayant exposé les bocaux au nord, aucun rayon solaire ne les frappa directement. Les tiges accusèrent également une élévation de même ordre que celles de 1920.

Le 24 mars, lors de la mise en bocaux, la teneur foliaire était de **0,462** %, quant aux alcaloïdes; **2,23** %, quant aux albuminoïdes. Le témoin resté dans le sol dosait, le 20 mai, **0,575** % quant aux alcaloïdes; **2,57** %, quant aux albuminoïdes. Les feuilles, restées en expérience, avaient une teneur en alcaloïdes, au 8 avril, de **0,511** %.

L'expérience poursuivie jusqu'au 20 mai donna alors, quant à ces feuilles, **0,532** % d'alcaloïdes et **1,98** % d'albuminoïdes.

L'augmentation était, quant aux alcaloïdes, de $0,532 - 0,462 = 0,070$ %. La diminution, quant aux albuminoïdes, était de $2,23 - 1,98 = 0,25$ %.

Cette expérience, dont la courbe (fig. 8) et le tableau n° 11 permettent de saisir de suite le sens et la valeur des

TABLEAU N° 11.

Cultures dans l'eau distillée (24 mars au 20 mai 1921.)

NATURE DES FEUILLES	DATE DES ANALYSES	ALCALOÏDES	AZOTE ALBUMINOÏDIQUE
Plante témoin.....	24 mars	0,462 ‰	2,23 ‰
Plante dans l'eau.....	8 avril	0,511 ‰	non dosé
Plante dans l'eau... ..	20 mai	0,532 ‰	1,98 ‰
Plante témoin.....	20 mai	0,575 ‰	2,57 ‰

variations chez les alcaloïdes et les albuminoïdes, contrôle et confirme celle de CLAUTRIAU, relatée au début de ce chapitre : sans alimentation minérale d'aucune sorte,

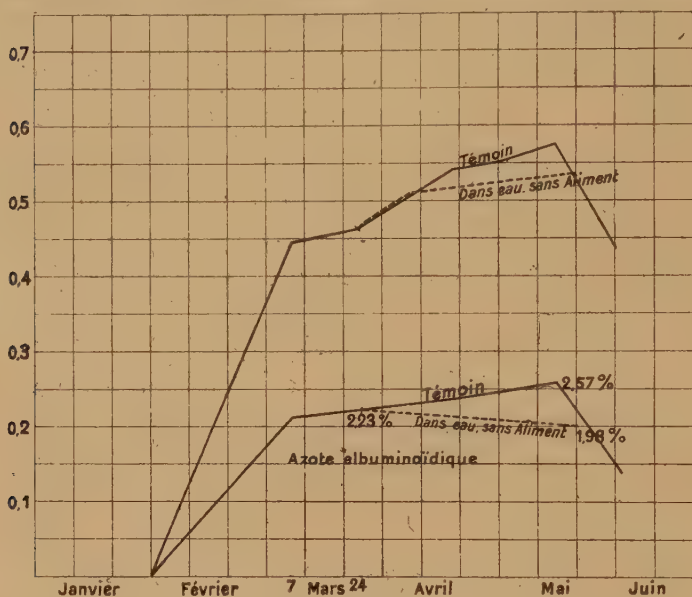


Fig. 8. — Variations des Alcaloïdes et Albuminoïdes. — Tige restée dans l'eau sans aliment.

la plante a continué à végéter, n'assimilant pas ses alcaloïdes et détruisant ses albuminoïdes. Cette relation entre ces deux corps permet de conclure certainement au rôle de déchet.

L'examen de l'eau des vases ne révéla jamais la présence d'alcaloïde.

III. — Cultures dans l'oxygène.

Je voulus démontrer d'une manière encore plus certaine le rôle de déchet des alcaloïdes, et je crois y être arrivé par les expériences suivantes.

On sait que si l'on augmente l'activité vitale d'un être en le faisant travailler intensément, ou en surexcitant ses fonctions nutritives à l'aide de procédés spéciaux, il consomme rapidement ses réserves, et quand celles-ci sont transformées en entier, il meurt d'inanition si l'on ne renouvelle pas à temps l'aliment.

JOHANSEN (5) avait reconnu que chez la plupart des plantes, en particulier chez les Phanérogames, la croissance et la respiration sont à peine atténuées dans une atmosphère où les molécules d'oxygène sont de 2 à 3 fois plus abondantes que dans l'air normal, à la pression ordinaire. Après une ou quelques heures de séjour en un tel milieu, l'activité respiratoire et la vie éprouvent un ralentissement jusqu'à ce qu'enfin, après des heures ou des jours, l'organisme périsse. JENTYS (6) a fait la même remarque.

Néanmoins, ces auteurs ont constaté que dans l'oxygène pur, à la pression atmosphérique, beaucoup de plantes vivaient très bien et subissaient une augmentation du coefficient respiratoire, quoique GODLEWSKY (7) ait prétendu que, dans ce cas, le rapport $\frac{CO^2}{O}$ ne changeait pas.

Mais même si le coefficient respiratoire ne s'élève pas avec l'oxygène pur et si cela ne devait rien changer, j'ai réalisé une atmosphère où l'assimilation chlorophyllienne, faute d'anhydride carbonique, ne pouvait se produire, comme on pourra le constater en se reportant au dispositif que j'ai employé.

Les tiges trempant dans l'eau distillée, aucune alimentation minérale ne pouvait permettre la formation de matières albuminoïdes. La plante vivait donc sur ses aliments de réserve, les épuisant plus vite que dans la vie normale, car BERT (8) avait constaté que l'oxygène pur à la pression normale a sensiblement la même action que l'air comprimé à cinq atmosphères. Alors, il y avait une élévation temporaire des échanges respiratoires due à une excitation momentanée de l'activité de la plante plutôt qu'à une modification normale de son état en rapport avec la pression.

Je fis ces expériences sous une grande cloche de quinze litres de volume, rodée à sa partie inférieure, ce qui permettait une fixation hermétique sur un plan de verre, à l'aide de graisse épaisse. Cette cloche, tubulée à son sommet, était fermée d'un bouchon percé de trois trous : l'un permettait le passage d'un tube de verre arrivant au fond de la cloche et assurant le départ des gaz ; un autre, assez court, amenait l'oxygène pur ; le troisième était la branche inférieure d'un manomètre à eau, à air libre et servait à mesurer la dénivellation de pression existant entre l'intérieur de la cloche et l'air ambiant.

Je préparai moi-même l'oxygène à l'aide de chlorate de potassium pur et je lavai soigneusement le gaz obtenu pour le débarrasser du peu de chlore qui aurait pu se former lors de sa préparation. Je le recueillis dans une poche en caoutchouc de 30 litres de volume. Pour être certain d'avoir de l'oxygène exempt d'anhydride carbonique, je le fis barboter avant d'arriver à la cloche dans

deux flacons laveurs contenant de la potasse concentrée et dans un troisième contenant de l'eau distillée.

Le tube de départ de la cloche communiquait avec un flacon laveur rempli d'eau de baryte, destinée à retenir le gaz carbonique qui aurait pu se former, par suite de la respiration détruisant les hydrates de carbone des tissus. Il était suivi d'un autre barboteur à eau distillée servant uniquement à contrôler le départ des gaz et empêcher les retours d'air à l'intérieur de la cloche au cas où l'aspirateur serait venu à ne plus fonctionner momentanément.

Je me servis comme aspirateur d'une trompe à eau, munie d'un robinet permettant un réglage automatique; le débit fut en moyenne de 2 litres 1/2 à l'heure. La dépression dans la cloche fut toujours très faible et juste nécessaire à l'entraînement des gaz; elle oscilla entre 10 et 12 centimètres d'eau quand l'équilibre était établi. Un thermomètre, disposé sous la cloche, permettait de se rendre compte des variations de température qui furent très faibles d'ailleurs, la salle où j'opérais étant exposée au nord et ne recevant jamais les rayons directs du soleil. Les plantes travaillaient donc dans une lumière intense et diffuse optimum à l'assimilation chlorophyllienne, si elle avait pu avoir lieu.

Je soumis à l'expérience des tiges de seconde coupe très vertes, riches en amidon; l'analyse chimique me donna une teneur en alcaloïdes de 0,345 % pour les feuilles.

J'introduisis ces tiges coupées au rasoir dans de petits

bocaux d'une contenance de 50 centimètres cubes remplis d'eau distillée. J'ai pu placer sous la cloche onze de ces flacons. La cloche fut fixée sur le plan rodé et j'établis pendant une demi-heure un violent courant d'oxygène qui balaya l'air qui pouvait y être contenu.

L'expérience dura 120 heures durant lesquelles il y eut le jour un temps radieux; peu à peu l'intérieur de la cloche se recouvrit d'une légère buée s'épaississant au fur et à mesure qu'augmentait la durée de l'opération. Il y avait une transpiration abondante n'empêchant pourtant pas les feuilles de rester fraîches et vertes.

Au bout de cinq jours, je constatai que celles-ci avaient tendance à se faner et je me décidai à ouvrir la cloche. Je coupai rapidement les feuilles que je desséchai à l'étuve à air sec le plus vite possible pour les empêcher de reprendre leur vie normale. Elles étaient gorgées d'eau et se détachaient aisément des tiges. Microchimiquement, je constatai la présence d'alcaloïdes et la disparition totale de l'amidon.

Je trempai deux feuilles, l'une témoin, l'autre ayant vécu dans l'oxygène, dans une solution d'iodure de potassium iodé; les deux feuilles, traitées ainsi après un rapide lavage, étalées sur une feuille de verre et regardées par transparence, avaient une teinte très différente : la feuille témoin était opaque presque noir, tandis que l'autre était jaunâtre et laissait passer la lumière. Ceci montre bien la disparition de l'amidon dans cette dernière. Je pouvais conclure que la plante ainsi traitée avait usé rapidement ses réserves amylacées; je ne dosai

rien quant aux matières albuminoïdes. La teneur alcaloïdique pour ces feuilles était de **0,664** %; elle avait augmenté en cinq jours de $0,664 - 0,345 = \mathbf{0,319}$ %.

En présence d'un résultat aussi net, je pouvais conclure au rôle de déchet des alcaloïdes. Mais cette expérience n'était pas complète; j'aurais dû suivre la variation des albuminoïdes dans ces conditions spéciales. Aussi, en mars 1921, j'ai repris la même expérience, dans les mêmes conditions, sans avoir rien modifié à l'appareil. Les feuilles prélevées le 25 mars venaient de plantes au stade de rosette; elles dosaient 0,462 % en alcaloïdes et 2,23 % en albuminoïdes, ces matières étant dosées après élimination des nitrates et alcaloïdes

J'introduisis, comme dans le premier cas, les tiges sous la cloche qui ne put en contenir que huit; elles étaient même un peu serrées; néanmoins, l'oxygène pouvait circuler librement. L'expérience dura encore cinq jours, soit 120 heures; la transpiration fut très abondante quoique la température ambiante fût peu élevée. Ces feuilles, à la fin de l'expérience, avaient une teneur alcaloïdique de 0,693 % et de 1,38 % en matières albuminoïdes.

Il y avait donc une *élévation* du taux des alcaloïdes de $0,693 - 0,462 = \mathbf{0,231}$ % et une *diminution* des albuminoïdes de $2,23 - 1,38 = \mathbf{0,85}$ %.

La courbe n° 9 (fig. 26) met en évidence cette élévation des alcaloïdes parallèle à la diminution des albuminoïdes.

Il est logique de se demander pourquoi les alcaloïdes n'ont pas diminué dans les branches cultivées dans l'eau

ainsi que le firent les branches revenues à la lumière et la plante normale en fin de végétation.

Dans les Belladones mises dans l'eau, la teneur alcaloïdique fut normale et jamais l'équilibre ne fut rompu. La destruction des alcaloïdes, variant relativement à leur construction, aurait dû être continuelle; peut-être a-t-elle été enrayée par la présence d'une grande quantité d'eau

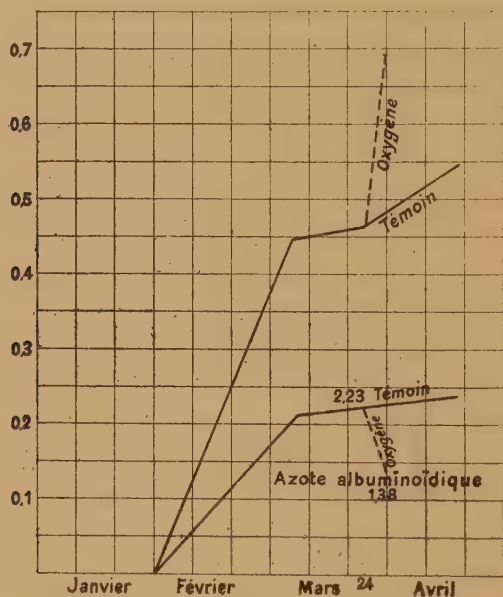


FIG. 9. — Augmentation des Alcaloïdes.
Diminution des Albuminoïdes après séjour dans l'oxygène pur.

dans les tissus, bien que ce soit peu probable car la plante à l'obscurité remise à la lumière en contenait également plus que normalement.

Mais ici, les branches n'étaient pas dans le même état pathologique que celui des tiges en fin de végétation, qui, en effet, ne contenaient plus d'albuminoïdes, critérium de

l'approche de la mort du végétal, alors que celles-ci avaient une teneur très appréciable et étaient très vivantes. Si j'avais attendu assez longtemps peut-être les alcaloïdes auraient disparu; j'ai essayé cette année de m'en rendre compte mais un certain stade dépassé, malgré une ventilation intense, la plante se met à pourrir rapidement et l'action de bactéries et de moisissures troublent les phénomènes.

Il est possible d'expliquer ici pourquoi l'épiderme inférieur des feuilles normales est toujours plus riche en alcaloïdes que le supérieur : la lumière l'atteignant est moins intense, tamisée par l'épiderme supérieur et les parenchymes qui retiennent, ainsi que l'a démontré M. DANGEARD, une partie des rayons ultra-violet et autres qui sont ici les plus actifs.

Je tiens également à faire remarquer combien est précise la relation chimique et microchimique existant entre les alcaloïdes et les albuminoïdes : j'ai dit que dans les expériences derrière écran coloré permettant le passage des rayons les moins réfrangibles la tige était toujours plus riche en alcaloïdes et cristaux d'oxalate de calcium. On sait que cette présence de cristaux en abondance est corrélative à une haute teneur en matières albuminoïdes. Cette comparaison de déchets oxalate de calcium, alcaloïdes et des albuminoïdes est significative et se passe de commentaires.

Nous reverrons cela dans des greffes montrant que pour une faible teneur en alcaloïdes parallèle à un petit développement, les cristaux sableux d'oxalate sont peu

abondants par rapport à d'autres greffes, dans lesquelles à une forte teneur en alcaloïdes correspondent de nombreux cristaux sableux.

CONCLUSIONS DU CHAPITRE IV

De ces expériences sur le cycle évolutif des alcaloïdes on peut tirer les conclusions suivantes :

1° Les alcaloïdes se forment à la lumière comme à l'obscurité.

2° Ils augmentent à l'obscurité parallèlement aux matières albuminoïdes.

3° Ils sont détruits à la lumière dans une mesure aboutissant à un stade d'équilibre entre la production et la désagrégation.

4° La teneur normale constatée pour une plante est la différence existant entre la production et la destruction au moment considéré.

5° La destruction des alcaloïdes serait due aux radiations les plus réfrangibles, c'est-à-dire celles de plus petites longueurs d'onde du bleu à l'ultra-violet, agissant directement, ou par un autre processus.

6° La chaleur favorise leur production ainsi que la respiration et en général tout phénomène augmentant l'activité vitale.

7° Ce sont des déchets qui ne rentrent plus dans le cycle nutritif; ils semblent être éliminés à l'état gazeux et représentent une perte d'azote pour la plante.

8° Ils proviennent de la dislocation de la molécule d'albumine lors de sa désassimilation.

BIBLIOGRAPHIE DU CHAPITRE IV

(1) CLAUTRIAU, *Nature des alcaloïdes végétaux et signification* (*loc. cit.*, p. 64).

(2) LUTZ, *Nutrition des végétaux à l'aide des alcaloïdes* (*Annales des Sciences physiques et chimiques dans leur rapport avec la médecine*, n^{os} 2 et 3, 1921, p. 39 et 40).

(3) LUTZ, *loc. cit.* (Thèse Doct.).

(4) COMMÈRE, *Du rôle de l'alcaloïde dans la nutrition des algues* (*Bull. Soc. Bot.*, 57-277-1910).

(5) JOHANSEN, *Botanical Institut Tubingen* (vol. 1, p. 176, 1885).

(6) JENTYS, *Botanical Institut Tubingen* (vol. 1, p. 457, 1888).

(7) GODLEWSKY, *Jahrb. F. Wiss. Bot.* (vol. 13, p. 522, 1882).

(8) Paul BERT, *C. R. A. des Sciences* (27, p. 531, 1873); *Annales de Physique et Chimie* (5^e série, vol. 7, p. 146); *La pression barométrique* (p. 856, 1878).

CHAPITRE V

SUR LA MIGRATION DES ALCALOÏDES AU NIVEAU DU BOURRELET DANS QUELQUES GREFFES DE SOLANÉES SUR SOLANÉES

Le passage de diverses substances au niveau du bourrelet de la greffe a été constaté par de nombreux auteurs et est aujourd'hui aussi indéniable que la rétention d'autres produits. Je ne m'occuperai pas ici des hydrates de carbone et autres substances, M. DANIEL (1) ayant tout dernièrement résumé et mis au point toutes ces questions si controversées. Je me bornerai à l'étude des alcaloïdes de quelques Solanées. Il y a longtemps déjà que la question a été envisagée chez diverses plantes à alcaloïdes.

Dès 1882, BERNELOT MÖENS (2) constatait que dans la greffe de *Cinchona Calisaya* sur *Cinchona Succirubra*, la quantité de quinine augmentait dans le sujet quand la quantité de cinchonidine augmentait dans le greffon *Calisaya*; VAN LEERSUM (3) confirmait le fait en 1886. En 1885, STRASBÜRGER (4) et KLINGER signalèrent l'existence d'atropine dans des tubercules de pommes de terre sur lesquels ils avaient greffé des *Datura Stramonium*. Mais, plus tard, en 1906, STRASBÜRGER désavoua ce

résultat (5). A la même époque M. LINDEMUTH (6) rappelait que, de 1875 à 1882, il avait fait de nombreux essais de greffage de Jusquiame, de *Datura* et d'autres Solanées sur la Pomme de terre, mais avait été incapable d'y déceler des traces d'alcaloïde.

La même année, MM. GRAFE et LINSBAUER (7) firent connaître les résultats de leurs recherches sur la greffe réciproque du *Nicotiana affinis* et du *Nicotiana tabacum*. Ils conclurent à ce que l'aptitude du sujet à former de la nicotine était accrue sous l'influence d'un greffon riche en nicotine. En 1907, MM. SCHMIDT et MEYER (8), reprenant l'expérience de STRASBÜRGER, ne purent déceler un passage quelconque d'alcaloïde dans la Pomme de terre.

La question de la migration des alcaloïdes dans les Solanées à la suite du greffage a surtout été étudiée par M. LAURENT (9) dans les greffes simples et mixtes de Belladone sur Tomate et inversement. Dans le cas de l'olidibiose de Belladone sur Tomate, il constata un passage d'atropine dans la tige et la racine de la Tomate; mais, dans la greffe inverse, ses résultats furent négatifs, de même que dans les hémidibioses ou greffes mixtes de Belladone sur Tomate. M. JAVILLIER (10), en 1910, confirma les expériences de M. LAURENT et trouva un passage d'alcaloïdes dans des greffes de Tomate sur Belladones. Il n'obtint aucun résultat avec des olidibioses de Belladone sur Pomme de terre et avec des hémidibioses de Tabac sur Pomme de terre.

A cette même époque, MM. MEYER et SCHMIDT (11) publièrent des résultats nouveaux sur la migration des

alcaloïdes dans des olodibioses de *Datura Stramonium* sur *Solanum lycopersicum*, et du même greffon sur *Solanum tuberosum*; ils trouvèrent dans la Pomme de terre et la Tomate une certaine quantité de daturine et autres corps provenant de l'épibioté. Dans le cas de l'olodibiose de *Nicotiana tabacum* sur *Nicotiana affinis* le passage était extrêmement net.

Encouragé par mon professeur, M. DANIEL, j'exécutai, pendant les années 1920 et 1921, les analyses d'un certain nombre de greffes qu'il avait eu la bonté de réaliser pour moi, leur réussite, très délicate dans certains cas, provenant beaucoup de l'habileté de l'opérateur.

J'étudiai toujours microchimiquement ces greffes avant de les soumettre à l'analyse chimique, chose qui jusqu'ici n'avait pas encore été expérimentée. Le passage mis en évidence, il était bien intéressant de savoir où et comment circulent les alcaloïdes dans la plante réceptrice ? Restaient-ils dans le tissu ligneux ? Dans ce cas, MM. LAURENT et JAVILLIER auraient pu se demander comment ils parvenaient dans les fruits de la Tomate ou encore dans les parties supérieures de la tige. Pénétraient-ils par le bois, le courant ascendant se faisant par ces vaisseaux ? Circulaient-ils par le liber ? En un mot, il eût été intéressant de chercher la migration dans la plante recevant ces corps, et même de voir si les formes de cristallisation n'étaient pas changées.

Je pratiquai des coupes transversales à différentes hauteurs du bourrelet et dans les deux biotes ou associés. Les coupes longitudinales ne me donnèrent aucun

résultat, car, au niveau du bourrelet, l'enchevêtrement des tissus est si grand qu'il est très difficile de s'y reconnaître. Je me servis dans les recherches microchimiques comme réactif de l'iodure de potassium iodé. Je n'insisterai pas outre mesure sur la description des nombreuses greffes réalisées, les figures et coupes montrant les différences mieux que ne le feraient de longues phrases.

I. — Parabioses de Belladone et de Tomate.

Dans les parabioses l'opération consiste en l'accolement de deux plantes, sans suppression de l'appareil assimilateur ou absorbant de l'un des deux conjoints. Une entaille longitudinale est pratiquée le long des tiges mettant à nu les cambiums libéroligneux; on rapproche les deux blessures et on les réunit étroitement l'une à l'autre par un lien de raphia. Les deux biotes, ayant conservé leurs appareils végétatifs propres, continuent à croître normalement. Il peut arriver que les deux cicatrices se referment sans se souder; la greffe alors n'a pas réussi et la vie continue comme si rien ne s'était passé. Autrement, les deux méristèmes différencient des cellules nombreuses à assises parallèles qui se soudent et font un petit bourrelet au travers duquel peuvent circuler les matières plastiques et aplastiques comme je l'ai constaté. La figure 3, planche XVIII, représente deux tiges, l'une de Belladone, l'autre de Tomate ainsi greffées; la soudure, dans la plupart des cas, était parfaite.

Quelquefois, elle n'était pas totale sur toute la surface; il existait des boutonnières que n'avaient pu combler les

cellules réparatrices. Il s'interpose souvent en ces boutonnières une substance noirâtre qualifiée de « *magma* », qui provient de la décomposition des cellules tuées pendant l'opération; elle retarde la soudure des deux tissus et, en coupe transversale, on voit en cet endroit les cellules cicatricielles qui se sont subérifiées. A la suite de cette greffe, l'aspect des deux plantes n'a guère changé, la cicatrice les ayant seulement un peu affaiblies.

Une coupe transversale passant au milieu de ce bourrelet en un endroit bien soudé montre les faits suivants : L'augmentation de l'amidon dans la moelle de la Tomate avec une légère dorsiventralité au niveau et du côté de la blessure; dans la Belladone, il y en avait très peu comme chez la plante normale. Les tissus cicatriciels contenaient une énorme quantité d'atropine et la moelle présentait une dorsiventralité alcaloïdique; la limite des cellules des deux plantes se distinguait de suite par la localisation intense des alcaloïdes dans la Belladone, mais celles de la Tomate en contenaient également.

A l'endroit où les méristèmes s'étaient accolés intimement il y avait très peu d'alcaloïde; quelques cellules n'en contenaient pas, mais dans la zone de soudure, aux deux extrémités d'une boutonnière, le passage était net, surtout dans la zone des différenciations de méristèmes accidentels, à une distance de deux ou trois assises de cellules de la soudure. Il semblait y avoir de l'atropine dans la Tomate, là où il y avait eu plus grande souffrance, à l'endroit où la réaction des cellules avait été la plus violente; dans leurs différenciations hâtives, les membranes

étaient plus minces et laissaient peut-être mieux pénétrer l'alcaloïde ? La solanine existait en très petites quantités dans la Tomate et précipitait également par le réactif de BOUCHARDAT; j'ai examiné les différences existant entre les cristaux; le doute n'est pas possible car l'on différencie facilement l'atropine et la solanine.

Les parabioses montrent que les alcaloïdes ont pu osmoser dans la Tomate alors que le courant existant entre les deux plantes était très faible; ils ont été entraînés sans doute avec le liquide exsudant à travers les membranes cellulaires. Ces expériences ne permettent pas de savoir si les alcaloïdes sont un déchet ou un aliment, car les différences entre les systèmes nutritifs des deux plantes sont trop grandes et empêchent d'obtenir une certitude quant au rôle d'un corps qui pourrait remplir les deux fonctions à la fois. Peut-être, en raisonnant par analogie, pourrait-on dire que si les alcaloïdes avaient été des aliments ils auraient passé en plus grande quantité, car dans de nombreuses greffes des hydrates de carbone et autres circulent abondamment à travers le bourrelet; mais rien pour le moment ne permet une affirmation semblable.

II. — Olodibioses de Solanées.

Ainsi que l'a défini M. DANIEL (12), l'olodibiose est la greffe de deux plantes avec suppression totale de l'appareil assimilateur de l'une et des organes absorbants de l'autre. Je n'ai étudié que ces sortes de greffes et j'ai tou-

jours veillé à ce qu'aucune repousse adventive ne vint transformer ces unions en hémidibioses ou greffes mixtes.

a) OLODIBIOSE DE BELLADONE (1920). — Les greffes furent effectuées sur de très jeunes Tomates permettant une reprise rapide et certaine. Les épibiotes ou greffons de Belladone étaient aussi semblables que possible; les conditions de milieu étaient comparables. Je réalisai ce même jour des greffes de Belladone sur *Solanum nigrum* également jeunes, aptes à donner un bon développement autant que cette plante le permet. Ces deux expériences de greffe devaient donc être comparables au cours de leur évolution et les différences présentées proviendraient pour la majeure partie des caractères physiologiques propres des deux sujets, Morelles et Tomates.

Exécutées le 25 mai, elles présentaient le 25 juin un développement sensible, pas encore total, mais permettant une étude approfondie des tissus; les bourrelets n'étant pas encore fortement lignifiés. Plus tard, au moment où furent prises les photographies figures 1 et 2, planches XII, l'étude microchimique eût été impossible; le tissu ligneux, très dur, ne permettait pas de faire des coupes minces contenant encore des alcaloïdes, et facilement observables.

2) BELLADONE SUR TOMATE. — La soudure parfaite des greffes que j'ai étudiées ne laissait qu'une petite boutonnière à l'extrémité inférieure de la fente dans la Tomate. Le passage des alcaloïdes était certain; ils s'étaient

amassés, chez la Tomate, dans l'écorce et les parenchymes libériens au contact de la Belladone. La forme des cristaux était la même que dans le témoin; ils étaient un peu plus petits seulement. Plus bas, dans un cas, une seule lèvre de la Belladone s'était soudée à la Tomate et les tissus accolés présentaient un léger magma; mais l'alcaloïde avait filtré dans la Tomate, sauf dans la moelle. Cependant, il avait pénétré en un endroit où celle-ci était en contact direct avec la Belladone.

Dans la zone pérимédullaire, il y avait un précipité brun kermès caractéristique. A 2 centimètres au-dessus de la partie du greffon, dans la moelle de la Tomate, on trouvait la cicatrice provenant de la blessure faite pendant l'opération : les méristèmes cicatriciels contenaient de l'atropine. Dans les parenchymes libériens et les rayons médullaires, à côté des cristaux sableux d'oxalate de calcium, il y avait de l'atropine. A 8 centimètres au-dessus de la fente, dans la région libérienne, je les localisai encore nettement.

Passant à l'examen de la racine principale, je remarquai dans la zone endodermique une vague localisation que je n'osai attribuer aux principes actifs. Néanmoins, cette précipitation n'existait pas dans des racines des Tomates témoins.

En fin juillet, les greffes étaient arrivées à la fin de leur développement, ainsi que le représentent les fig. 1 et 2 de la planche XII. J'analysai alors les bourrelets, les tiges et racines des Tomates; mais j'enlevai au préalable, à l'aide d'un scalpel, toute la partie de la Belladone

adhérente à la Tomate et coupai même une partie de celle-ci en contact avec le greffon, pour être certain de ne doser que les tissus de la Tomate. Les analyses donnèrent des résultats positifs pour trois cas envisagés, mais dans un quatrième je ne trouvai rien. L'analyse chimique ne fournit aucun résultat, mais la réaction de VITALI et l'essai physiologique furent positifs et celui-ci provoqua la mydriase de la pupille d'un jeune chat. C'est ce qu'indique le tableau suivant :

Tiges et racines de Tomate greffée sur Belladone

Pourcentage des alcaloïdes	N° 1	0,004	RÉACTION de VITALI	positive
	N° 2	0,007		positive
	N° 3	0,006		positive
	N° 4	rien		positive

β) BELLADONE SUR MORELLE NOIRE. — La reprise s'effectua plus difficilement qu'avec la Tomate; le greffon se développa lentement et resta chétif ainsi que le montre la figure 1, planche XII.

Le bourrelet se lignifia beaucoup plus rapidement que dans le cas précédent et resta tout petit, à peine accusé; les soudures étaient intimes, la Belladone ayant développé beaucoup de parenchymes cicatriciels, tendant à rendre la surface d'absorption maximum et à donner à l'épibiotte la grande quantité de sève brute nécessaire à sa capacité fonctionnelle d'évaporation élevée.

La localisation de l'atropine était abondante surtout à la hauteur du bourrelet et avait la même disposition que dans la Tomate, avec une légère augmentation dans

la zone pérимédullaire. Au-dessus du bourrelet, il y en avait encore. L'examen d'un témoin montra que les réactions obtenues étaient bien dues à l'atropine et non à la solanine existant dans cette plante. La tige en contenait également dans les cellules avoisinantes du liber et dans les rayons médullaires.

L'analyse chimique donna les résultats suivants :

Morelle noire greffée : Tige et Racine

Pourcentage des Alcaloïdes.....	N° 1	0,003
	N° 2	0,003

Les deux greffes, faites dans des conditions comparables, présentaient des caractères intéressants au point de vue physiologique : par les expériences de la première partie de ce travail, nous avons vu que la teneur en alcaloïdes est intimement liée à la capacité fonctionnelle physiologique et à l'état biologique de la plante considérée.

La greffe permet de réaliser des variations de capacités fonctionnelles par le choix d'un sujet approprié : la Belladone prise comme épibiotte conserva son appareil assimilateur; le développement de celui-ci, en relation directe avec les racines, ou appareil absorbant du sujet, avait varié suivant la puissance relative de ce sujet, correspondant à une capacité fonctionnelle d'absorption plus ou moins grande. Dans le cas contraire, il s'est réalisé une atrophie du greffon due au faible développement du sujet. Dans la plante greffée, le greffon peut donc avoir une activité vitale tantôt plus considérable, tantôt

moindre, sur certains sujets qui, à l'état autonome, ont des capacités fonctionnelles plus ou moins élevées.

Dans ces cas, ses déchets seront fonction directe de l'augmentation ou de la réduction de vitalité qu'il a subi du fait de sa symbiose.

Dans les greffes précédentes, c'est ce qui s'est passé, ainsi que le montre la comparaison des figures 1 et 2, planche XII. Le racinage de la Tomate étant bien développé, la sève brute qu'elle fournit au greffon Belladone est assez abondante pour que celui-ci vive presque normalement et prenne un développement aérien plus ou moins voisin de celui d'un pied autonome, quoique presque toujours un peu inférieur; les échanges seront donc plus faibles que dans le témoin et nous verrons alors comment les alcaloïdes ont varié.

Quand le sujet est la Morelle noire, plante de capacités fonctionnelles moindres que la Tomate, par suite de son racinage beaucoup plus réduit et moins actif, la vie de la Belladone greffon se trouve considérablement ralentie; elle se développe lentement et reste chétive, se lignifie plus vite, se ramifie peu ou pas; ses fruits sont peu nombreux mais plus gros; en résumé, avec sa tige cassante et ses feuilles chlorotiques jaunissant prématurément, la Belladone greffon présente tous les caractères d'une plante poussée en milieu sec ou pauvre. Si la vie est ainsi ralentie, qu'en résultera-t-il pour les échanges et les résidus?

Les coupes des figures 1 et 2, planches XIX et XX, faites dans le pétiole de la feuille de Belladone greffée

sur Tomate d'une part, et sur Morelle de l'autre, montrent des différences énormes quant au bois et aux parenchymes. Dans les coupes au fort grossissement, figures 1 et 2, planche XX, on voit de même que les cristaux d'oxalate de calcium sont plus nombreux chez la Belladone greffée sur Tomate. Ceci met bien en évidence l'accroissement des résidus parallèle à l'intensité des échanges nutritifs. J'ai indiqué, à la page 115, la relation existant entre la présence de ces cristaux et la teneur en albuminoïdes; les cristaux étant nombreux, les albuminoïdes se sont comportés de même, et le tableau suivant nous montre qu'il en fut également ainsi pour les alcaloïdes :

Pourcentage des alcaloïdes dans les greffes de belladone
sur Tomate et sur Morelle

BELLADONE TÉMOIN	BELLADONE SUR TOMATE	BELLADONE SUR MORELLE
0,352 %	0,332 %	0,216 %
0,341 %	0,351 %	0,237 %
0,365 %	0,321 %	0,209 %

Donc, dans la greffe, les alcaloïdes augmentent avec l'activité vitale du greffon suivant la capacité fonctionnelle plus ou moins grande du sujet; d'autre part, ils se comportent comme des déchets.

Ceci correspond également à ce que disait M. LAURENT (13) : « Les proportions d'alcaloïdes dans les feuilles de Belladone greffon varient avec chacun des greffons alors que dans la plante témoin la proportion est sensiblement la même ». Dans les olodibioses comme dans

les hémidibioses, il oublia de faire remarquer qu'en moyenne et dans de grandes proportions la teneur alcaloïdique du greffon Belladone est plus faible que celle du témoin. Ceci provient de ce que le bourrelet s'oppose à la libre circulation de certains éléments qui ont sur le développement des associés une influence considérable.

Ces divers résultats, un peu surprenants au premier abord, se conçoivent aisément par la considération des capacités fonctionnelles ainsi que l'a exposé M. DANIEL (14). En se rapportant à son « *Traité des Capacités fonctionnelles* », l'explication rationnelle jaillit d'elle-même sans faire intervenir aucun phénomène particulier.

b) GREFFES FAITES EN 1921. — Comme je me suis surtout préoccupé en 1921 d'étudier les variations des alcaloïdes dans la Belladone sous l'action de différents facteurs, j'ai un peu négligé la greffe au point de vue du rendement alcaloïdique du greffon mais j'ai réalisé néanmoins quelques symbioses nouvelles. J'ai repris souvent des greffes exécutées il y a longtemps par M. DANIEL, mais non encore examinées au point de vue de la migration des principes actifs.

a) GREFFE DE DOUCE-AMÈRE SUR BELLADONE. — Une symbiose nouvelle me fut suggérée par lui : la greffe de *Solanum Dulcamara* sur racine de Belladone. La planche XIII la représente en plein développement. Le greffon, lors de l'opération, mesurait 10 centimètres et avait très peu de bourgeons.

J'espérais obtenir, par cette greffe, des résultats concluants quant à l'utilisation des alcaloïdes. En effet, la Douce-Amère puise dans la racine de Belladone les substances nécessaires à sa vie; que fera-t-elle des alcaloïdes? S'ils sont des aliments pour elle, ils doivent presque nécessairement être digérés comme l'amidon et les albuminoïdes. J'ai fait en mars, sur des racines de Belladone de différentes grosseurs provenant de pieds âgés de 4 ans, des greffes en fente ordinaires.

La reprise fut assez lente mais la Douce-Amère finit cependant par se développer normalement, et bientôt fleurit et fructifia en abondance. Sa tige était très ligneuse, un peu plus que normalement peut-être, mais rien n'était changé dans la forme et la couleur des fleurs et des fruits. Aucun bourrelet saillant ne s'était formé; à ce niveau, dans la racine de Belladone, les réserves s'étaient hydrolisées et à l'entour il restait peu d'amidon. Les alcaloïdes étaient, comme toujours, abondants.

Dans les deux biotes, il s'était formé des cellules réparatrices; les bois, tordus et enchevêtrés, avaient une allure spéciale; la soudure des tissus de la tige avec les tissus de réserve de la racine était assez bizarre et très embrouillée. Quant aux alcaloïdes, ils avaient émigré dans la Douce-Amère dont la tige bourrée d'amidon, la moelle surtout, en présentait abondamment; ils précipitaient en cristaux métalliques caractéristiques. Le liber, ici encore, semblait être le lieu de la circulation ascendante, les alcaloïdes ne pouvant se former sur place.

Les fruits, analysés séparément, donnèrent dans un

cas une réaction physiologique positive, mais ne fournirent rien à l'analyse quantitative.

Microchimiquement, sur deux exemplaires, je ne trouvai pas de passage.

Ayant dosé ensemble tiges, feuilles et fruits, je trouvai les chiffres suivants concernant le pourcentage des alcaloïdes de quatre échantillons différents de ces sortes de greffes : 0,025; 0,018; 0,013 et 0,008 pour cent.

Dans ces cas, la migration est plus importante que pour les greffes sur Tomate et sur Morelle noire.

Nous verrons, par la suite, que dans toutes les greffes de Belladone examinées la quantité d'alcaloïde contenue dans le greffon est toujours plus grande et se localise spécialement dans la zone périmédullaire.

Que sont devenues les alcaloïdes de la racine greffée ? Ils ont légèrement diminué, mais d'une façon peu sensible par rapport au témoin qui présente lui-même, d'une racine à une autre, des variations de même sens et de même amplitude. Néanmoins, nous pouvons conclure qu'ils ont légèrement diminué, en considérant que : la racine a formé des parties nouvelles, à la suite de la greffe. Le tableau suivant montre les variations de la teneur alcaloïdique dans ces greffes.

Pourcentage des Alcaloïdes

RACINE TÉMOIN	RACINE GREFFÉE	DOUCE-AMÈRE
0,257 %	0,208 %	0,025 %
0,243 %	0,219 %	0,013 %
0,268 %	0,205 %	0,008 %
"	0,239 %	0,018 %

Les alcaloïdes disparus de la racine, qui ont émigré, se retrouvent donc en partie dans l'épibioté et l'on ne peut leur attribuer ici le rôle d'aliment, car ils n'ont pas été utilisés par la Douce-Amère, ayant pourtant besoin d'aliments de toutes sortes.

β) GREFFE DE TOMATE SUR BELLADONE. — Ces greffes, déjà réalisées par différents expérimentateurs, réussissent très bien: les Tomates fournissent un développement presque normal et donnent de beaux fruits.

L'examen du bourrelet me révéla un passage alcaloïdique dans la Tomate et une migration vers les parties supérieures; l'alcaloïde se localisait nettement dans la zone périmédullaire et un peu dans l'écorce.

La planche XIV montre un exemplaire avec de petites Tomates en voie de croissance. Ces fruits, arrivés à maturité, donnèrent à l'examen physiologique une réaction positive. Les tiges et feuilles de trois échantillons contenaient 0,041; 0,008 et 0,005 % d'alcaloïdes.

γ) GREFFES DE POMME DE TERRE SUR BELLADONE. — M. DANIEL a réalisé maintes fois cette greffe, d'une réussite assez délicate, et souvent il a obtenu une tuberculisation aérienne de la Pomme de terre. Il me fit rechercher si ces tubercules aériens contiennent de l'atropine; il était intéressant de préciser si, lors de la migration, les alcaloïdes émigraient vers les centres de réserves.

Ces greffes furent faites en temps et lieu propices, mais reprirent difficilement; leur développement fut toujours

chétif, à part l'exemplaire sur Belladone âgée de 1 an seulement. Les feuilles restèrent chlorotiques ; il ne se forma jamais de bourrelet proéminent ; les tissus s'accro-
lèrent sans grande prolifération. La planche XVI montre des échantillons avec de petits tubercules aériens, qui, en fin de végétation de la Pomme de terre, commencèrent à développer des bourgeons.

L'examen du bourrelet révéla la présence d'alcaloïdes dans tous les cas, sauf un. Je les localisai dans l'écorce, l'endoderme, un peu dans la moelle et dans la zone péri-médullaire ; ils s'élevaient dans les tiges jusqu'aux extré-
mités où ils existaient seulement dans cette zone périmédullaire. L'examen anatomique des tubercules montra qu'ils étaient à peu près normaux ; l'épiderme était fortement cutinisé ; les parenchymes étaient bourrés d'amidon sans aucune trace d'alcaloïde ; dosés à part, je n'en trouvai pas davantage ; de même l'essai physiologique fut négatif.

Le tableau ci-dessous donne les résultats quant à la

Pourcentage des alcaloïdes dans les greffes de Pomme de terre sur Belladone

ÉPOQUE des ANALYSES	TIGE DE BELLADONE TÉMOIN	POMME DE TERRE GREFFON		BELLADONE TIGE SUJET
		TENEUR	POIDS DES TUBERCULES	
Juin	0,525 ‰	?		0,491 ‰
	»	0,005 ‰	25 gr.	0,528 ‰
	»	0,007 ‰	18 gr.	0,509 ‰
	»	0,003 ‰	12 gr.	0,513 ‰
8 juillet	0,437 ‰	0,002 ‰	pas de tubercule	0,456 ‰
19 juillet	»	0,018 ‰	14 gr.	0,530 ‰
	»	0,017 ‰	48 gr.	0,479 ‰

teneur des différents échantillons à leur date de récolte. Un fait précis en ressort; plus les tubercules étaient gros, plus le greffon contenait d'alcaloïdes. La teneur de la tige des Belladones n'avait pas varié pendant le développement des greffons.

δ) GREFFES DE BELLADONE SUR POMME DE TERRE. —

Sur des tiges de Pommes de terre bien développées je greffai en mai de jeunes Belladones. La reprise s'effectua très bien: la Belladone ne se modifia pas tandis que la tige de Pomme de terre développa énormément ses ailes et verdit fortement. Sur trois échantillons, deux moururent au bout d'un mois de végétation par suite d'ondées suivies d'un soleil très chaud; les Pommes de terre sujet pourrissaient par pléthore aqueuse. Celle qui subsista tenta de développer de nombreuses repousses qui furent coupées dès leur apparition. Ainsi, si des tubercules s'étaient formés, ils eussent été entièrement constitués par la sève élaborée de la Belladone et la portion de tige de Pomme de terre formant l'hypobiote.

La Belladone fructifia abondamment; le 1^{er} août, je ne trouvai aucun tubercule lors de l'arrachage. L'examen du bourrelet ne révéla aucune trace d'alcaloïde; les parenchymes, très aqueux, n'en contenaient pas trace; l'essai physiologique resta lui-même négatif. Il n'y avait donc pas eu passage d'alcaloïde. Il est bon de faire remarquer ici que, pour obtenir 300 grammes de tubercules, ainsi que le signalent MM. MEYER et SCHMIDT, il faut laisser une grande portion de tige de Pomme de

terre ou bien permettre le développement des repousses. Dans ce cas, il s'agit d'une hémidibiose et il est logique que les tubercules ne contiennent pas d'alcaloïdes, car ils sont formés presque exclusivement par l'hypobiote.

e) GREFFES DE BELLADONE SUR AUBERGINE. — Je tentai encore l'olodibiose de Belladone sur Aubergine, mais je n'en dirai qu'un mot, car je l'ai examinée seulement microchimiquement. Après une reprise très rapide, un bourrelet se forma; la Belladone, âgée de un an, prit un développement presque normal ainsi que le montre la figure 1, planche XVIII. Dans des coupes effectuées au niveau du bourrelet (fig. 3, planche V), je constatai la présence d'atropine, localisée comme dans les cas précédents.

c) QUELQUES CONSIDÉRATIONS SUR LE *Datura stramonium*. — Au début de mes recherches sur la Belladone, en 1920, j'avais commencé à étudier la localisation des alcaloïdes dans le *Datura*, mais, trop préoccupé par la première, j'ai dû remettre à plus tard mes expériences; néanmoins je signalerai ici un fait nouveau.

Quand, par la méthode de MOLLE (15), on localise l'alcaloïde du *Datura* sur une tige jeune, on constate facilement sa présence. Mais si l'on prend une tige portant des fruits ou même des fleurs, on ne trouve plus trace d'alcaloïde jusqu'à une distance de 10 centimètres en moyenne des feuilles. C'est un cas général chez le *Datura*, car je l'ai vérifié sur plus de 50 échantillons différents.

Le fait sur lequel j'appelle ici l'attention est celui-ci : j'ai décortiqué de très jeunes exemplaires de *Datura* ; leur tige contenait alors de l'alkaloïde. La décortication atteignait le bois qui ne formait pas encore un anneau complet. Au bout d'un mois, j'ai coupé les tiges au-dessus de la décortication faite à 15 centimètres au-dessus du sol ; il n'y avait plus d'alkaloïde, ni au-dessus ni au-dessous de l'anneau enlevé. Ce produit existait seulement au milieu de la plaie, dans les tissus de cicatrisation nouvellement formés. Était-ce l'alkaloïde ancien qui s'était concentré en ce point, ou bien de l'alkaloïde nouveau résultant de l'activité cellulaire réparatrice des méristèmes cicatriciels ? Je l'ignore et je ne pourrais en ce moment qu'émettre des hypothèses peu vérifiables.

Mais, ayant fait des blessures sur des tiges ne possédant plus d'alkaloïde et enlevé par exemple un carré d'écorce au sens ancien du mot, j'ai observé qu'à ce niveau il n'y avait plus d'alkaloïde. Au bout de 25 jours, les tissus avaient bourgeonné, et, au-dessus et au-dessous de la plaie, il n'y avait pas d'alkaloïde ; il existait seulement à l'endroit de la réparation. Il s'était donc formé sur place. De ces expériences, il est peut-être prématuré de conclure que l'alkaloïde est ici encore un déchet, résultant du travail effectué par les méristèmes réparateurs lors de la formation de nouveaux tissus, bien que cela paraisse très probable. Des piqûres atteignant le centre de la moelle d'une tige ne contenant plus d'alkaloïde y causèrent une réapparition d'alkaloïdes que CLAU-TRIAU (16) ne put jamais obtenir par ce moyen sur le Caféier.

Pour constater la disparition de cet alcaloïde, il aurait fallu attendre très longtemps car, en fin de végétation, les graines tombées à terre, il existait encore dans la tige au point piqué.

De ces faits, je ne conclus rien quant au rôle de déchets, mais il semble probable, car à cette époque, l'amidon ayant totalement disparu, la tige étant devenue flasque : si l'alcaloïde avait été un aliment, il aurait disparu.

α) GREFFES DE POMME DE TERRE SUR *Datura STRAMONIUM*. — Les expériences de STRASBÜRGER sur la greffe de *Datura* sur Pomme de terre, puis celles de MEYER et SCHMIDT (17) prouvèrent le passage de principes actifs au niveau du bourrelet, mais la greffe de Pomme de terre sur *Datura* n'avait pas encore été faite. Le 17 mai, je fis des greffes de cette nature. La reprise, sous cloche, s'effectua merveilleusement, la Pomme de terre donna de belles pousses vertes longues et charnues, douées d'un géotropisme positif anormal chez cette plante. Les greffes, faites à 10 centimètres au-dessus du sol, atteignaient au 15 juillet une hauteur de 60 à 80 centimètres. Ce développement foliaire abondant empêcha sans doute la tuberculisation aérienne.

Au 15 juillet, j'opérai un grand nombre de coupes au niveau du bourrelet et le long de la tige de l'épibioté. J'y localisai, toujours dans les mêmes parenchymes que précédemment, la présence d'alcaloïdes, à l'aide du réactif de BOUCHARDAT. A 7-8 centimètres en moyenne au-dessus du bourrelet, je ne distinguai plus le précipité

alcaloïdique dans la moyenne des cinq exemplaires étudiés ainsi. Sur ces cinq exemplaires, quatre seulement donnèrent une réaction positive. Le taux des alcaloïdes que je dosai, avec le même coefficient que celui adopté pour la Belladone, me donna :

				‰ alcaloïdes.
1 ^{er} échant.	:	tiges et feuilles de Pomme de terre.		0,003
2 ^e	—	—	—	0,001
3 ^e	—	—	—	aucun passage.
4 ^e	—	—	—	0,004
5 ^e	—	—	—	0,003

β) GREFFE DE TOMATE SUR DATURA. — J'ai opéré, dans les mêmes conditions que pour le cas précédent, des olodibioses de *Solanum Lycopersicum* sur *Datura Stramonium* (pl. XVII). La végétation de ces Tomates, dans cette symbiose, est encore plus luxuriante que celle de la Pomme de terre sur le même sujet; elle était en floraison au mois de juillet et, en août, elle présentait de beaux fruits arrivés à totale maturité.

Il serait fastidieux d'insister encore sur la localisation microchimique des alcaloïdes ayant émigré dans la Tomate; je dirai seulement qu'au-dessus du bourrelet la quantité d'atropine était plus abondante que dans le cas de la Pomme de terre. La moelle était le lieu de rassemblement des principes actifs. L'accumulation de l'amidon y était intense, comme d'ailleurs dans le *Datura* au niveau de la soudure.

Des analyses faites au 15 juillet donnèrent :

	°/o alcaloïdes.
1 ^{er} échantillon : tiges et feuilles de la Tomate...	0,024
2 ^e — — — — — ...	0,006
3 ^e — — — — — ...	0,009

En août, je desséchai les Tomates arrivées à maturité et essayai sans résultat positif d'y localiser des principes actifs. Même la réaction physiologique, plus sensible que l'analyse chimique, fut négative.

γ) GREFFES DE JUSQUIAME SUR AUBERGINE. — La figure 2, planche XVIII, représente une greffe de Jusquiame sur Aubergine; la symbiose était alors à son début; on voit que la reprise s'effectue très bien. La Jusquiame parvint même à fructifier. La coupe, figure 3, planche XX, passe au milieu du bourrelet et montre la soudure parfaite des deux biotes. J'ai pu déterminer microchimiquement le passage de l'hyosciamine de l'Aubergine dans le bourrelet qu'elle ne dépassa pas; en général, elle se localisa dans les tissus comme dans les cas précédents.

CONCLUSIONS DU CHAPITRE V

Nous pouvons dire que :

1° Les recherches sur la migration des alcaloïdes dans le bourrelet des greffes de plantes à alcaloïdes viennent corroborer l'opinion déjà bien établie du passage de certaines substances apoplastiques au niveau du bourrelet.

2° Ces substances cheminent dans la plante réceptrice pour atteindre les parties supérieures par la zone péri-médullaire où l'analyse microchimique les a toujours localisées.

3° Si l'on fournit à la Belladone, par exemple, par une greffe judicieusement choisie, un hypobioté à grande capacité fonctionnelle, l'on augmentera la vitalité de la Belladone, qui fournira alors une plus grande quantité d'alcaloïdes.

Je me propose de rechercher l'hypobioté améliorant susceptible d'augmenter chez la Belladone la teneur en alcaloïdes.

BIBLIOGRAPHIE DU CHAPITRE V

- (1) DANIEL, *Bulletin officiel de la direction des recherches et inventions* (N^{os} 20 à 25, 1921).
 - (2) B. MOENS, *Die kinakultur in Asien* (162-1882).
 - (3) P. VAN LEERSUM, *Naturkundig tijdschrift voor Nederlandsch* (59-33-34-1900).
 - (4) STRASBÜRGER, *loc. cit.*, p. 34.
 - (5) STRASBÜRGER, *Ber. d. Bot. Gesell* (24-599-1906).
 - (6) LINDEMUTH, *loc. cit.*, p. 428.
 - (7) GRAFE et LINSBAUER, *loc. cit.*, p. 366.
 - (8) A. MEYER et SCHMIDT, *loc. cit.*, p. 329, 1907.
 - (9) LAURENT, *loc. cit.* (Thèse Doctorat ès Sc., Paris, 1907).
 - (10) JAVILLIER, *loc. cit.*
 - (11) A. MEYER et SCHMIDT, *Flora* (317-1909-1910).
 - (12) L. DANIEL, *Rev. Génér. de Botanique* (t. XXV bis, 1914).
 - (13) LAURENT, *loc. cit.*, p. 99.
 - (14) L. DANIEL, *loc. cit.* (Traité des Capacités).
 - (15) MOLLE, *loc. cit.*
 - (16) CLAUTRIAU, *loc. cit.*
 - (17) MEYER et SCHMIDT, *loc. cit.*, 1910.
-

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

On peut distinguer, quant à l'évolution des alcaloïdes dans la Belladone, trois grandes catégories de conclusions ressortant des recherches que je viens d'exposer. Elles concernent :

- 1° Les notions acquises par la localisation microchimique;
- 2° Les variations et le rôle biologique des alcaloïdes ;
- 3° La migration et la variation des alcaloïdes à la suite de la greffe.

PREMIÈRE CATÉGORIE

Notions acquises par la localisation microchimique.

La localisation microchimique permet :

- a) de suivre l'évolution qualitative des alcaloïdes ;
- b) de constater leur apparition à la suite de traumatismes divers ;
- c) d'observer leur diminution dans l'épiderme supérieur de la feuille sous l'action de la lumière, après séjour à l'obscurité ;
- d) de constater leur migration à travers le bourrelet de la greffe et leur localisation dans la plante réceptrice dans la zone pérимédullaire de la tige.
- e) de contrôler, dans une certaine limite, l'analyse chimique.

DEUXIÈME CATÉGORIE

Variation et rôle biologique des Alcaloïdes.

a) La teneur en alcaloïdes de la Belladone est fonction directe de l'activité vitale de la plante dans les conditions normales.

b) Toute modification des capacités fonctionnelles d'absorption et de consommation se répercute sur le pourcentage en atropine.

c) La chaleur et la sécheresse favorisent une production intense de ces corps dans la plante normale.

d) Ils se forment à la lumière comme à l'obscurité.

e) Ils augmentent à l'obscurité parallèlement aux albuminoïdes.

f) Dans la plante étiolée ramenée à la lumière, ils disparaissent pour rétablir le taux normal du témoin.

g) Leur destruction serait due aux radiations solaires de plus petite longueur d'onde, du bleu à l'ultra-violet.

h) La teneur en alcaloïdes d'une Belladone à tout instant de son évolution est la différence existant entre la production et la désintégration de ces corps.

i) Ce sont des déchets qui ne rentrent plus dans le cycle nutritif; ils semblent être éliminés à l'état gazeux et représentent une perte d'azote pour la plante.

j) Ils proviennent de la dislocation de la molécule d'albumine lors de sa désassimilation.

TROISIÈME CATÉGORIE

Migration des Alcaloïdes à la suite de la greffe.

a) Les alcaloïdes, au même titre que les substances plastiques, franchissent le bourrelet de la greffe et pénètrent plus ou moins loin en minimes proportions dans l'associé qui n'en possède pas en temps ordinaire.

b) Ils émigrent plus abondamment quand la Belladone joue le rôle d'hypobiote ou sujet.

c) La teneur en alcaloïdes de la Belladone, formant l'épibiote ou greffon, est proportionnelle à la capacité fonctionnelle d'absorption du sujet.

EXPLICATION DES PLANCHES

PLANCHE I.

Belladone, d'après une planche en couleur provenant d'un manuscrit du XVI^e siècle (Cette photographie m'a été procurée par M. Daniel, qui l'a prise au British Museum).

PLANCHE II.

Coupes transversales d'une Belladone décapitée et d'une Belladone normale.

FIG. 1. — Coupe de la Belladone décapitée. Elle présente une dorsiventralité accusée, le dos étant situé du côté du rameau réparateur. On remarque qu'à la décapitation correspond un bois à grands éléments enregistrant les variations biologiques causées par la décapitation.

FIG. 2. — Coupe d'une Belladone normale montrant la dorsiventralité par rapport à l'éclairement, le dos étant situé du côté le plus éclairé; à la dorsiventralité anatomique correspond une dorsiventralité chimique.

PLANCHE III.

Coupes transversales d'une tige de Belladone développée à l'obscurité.

FIG. 1. — Vue d'ensemble de la coupe; l'écorce et l'anneau ligneux ont sensiblement la même épaisseur dans tous les points de la coupe.

FIG. 2. — Portion grossie de la coupe précédente. On voit les bois primaires surmontés de bois secondaires à grands éléments. La lignification est moins intense que dans le cas normal; les parenchymes et les libers sont très développés.

PLANCHE IV.

Coupes de tiges de *Solanum Dulcamara* ayant poussé derrière des écrans colorés.

FIG. 1. — Coupe de la tige de la plante venue derrière un écran bleu. On remarque le développement restreint des tissus ligneux et l'abon-

dance des cristaux d'oxalate de calcium, particulièrement au voisinage du liber.

FIG. 2. — Coupe de la tige de la plante ayant poussé derrière un écran rouge; les bois sont relativement développés; les cristaux sableux d'oxalate de calcium le sont moins que dans la coupe précédente.

PLANCHE V.

Belladones venues derrière des écrans colorés et coupe du bourrelet d'une Belladone greffée.

FIG. 1. — Belladone développée derrière un écran rouge; on remarque l'allongement des entre-nœuds, comme à l'obscurité, ainsi que la réduction du nombre et de la surface des feuilles.

FIG. 2. — Belladone développée derrière un écran rouge; les entre-nœuds sont très courts, mais les feuilles sont plus nombreuses et plus larges.

FIG. 3. — Coupe transversale d'un bourrelet de greffe de Belladone sur Aubergine. On voit que la reprise est parfaite et est différente sur les deux lèvres de l'hypobioté.

PLANCHE VI.

Coupes transversales de tiges de Belladones développées derrière des écrans colorés.

FIG. 1. — Coupe de la tige de Belladone venue derrière un écran bleu.

FIG. 2. — Coupe de la tige de Belladone développée derrière un écran rouge. Il y a des différences marquées dans le développement des tissus ligneux et parenchymateux.

PLANCHE VII.

Portions grossies des figures 1 et 2 de la planche précédente.

FIG. 1. — Tige de Belladone venue derrière un écran bleu.

FIG. 2. — Tige de Belladone venue derrière un écran rouge; les différences présentées par ces tiges, tant dans le diamètre des vaisseaux que dans leur lignification et leur volume, sont considérables.

PLANCHE VIII.

Coupe de la tige de Belladone témoin.

FIG. 1. — Vue d'ensemble; l'anneau est plus épais que dans les cas précédents; les tissus ligneux secondaires sont plus développés.

FIG. 2. — Portion grossie de la figure 1; la différence des bois est particulièrement sensible.

PLANCHE IX.

Coupe transversale d'une tige de Belladone étiolée et remise ensuite à la lumière.

FIG. 1. — Vue d'ensemble; la lumière venant du côté gauche de la figure, la dessiccation de la partie de la tige directement exposée aux rayons solaires s'est produite assez rapidement. Il existe une dorsiventralité anormale, car la partie la plus épaisse de la coupe est la moins éclairée.

FIG. 2. — Portion grossie de la figure 1, dans la région du dos; les bois reprennent progressivement leur allure normale.

PLANCHE X.

Belladone normale en fruits.

PLANCHE XI.

Belladone décortiquée. Le développement général de l'appareil végétatif est plus grand et les fruits surtout sont plus gros.

PLANCHE XII.

Olodibioses de Belladone.

FIG. 1. — Belladone greffée sur Morelle noire.

FIG. 2. — Belladone greffée sur Tomate.

Il existe des différences considérables dans le développement du racinage et de l'appareil végétatif aérien chez ces deux sortes de symbioses.

PLANCHE XIII.

Olobidiose de Douce-Amère sur racine de Belladone.

PLANCHE XIV.

Olobidiose de Tomate sur Belladone. La Tomate est au début de sa fructification.

PLANCHE XV.

Olobidiose d'une Pomme de terre et d'une jeune Belladone âgée d'un an; l'épibiote est très développé.

PLANCHE XVI.

Polybiose d'une Pomme de terre et d'une Belladone âgée de 4 ans; l'épibiote reste petit et donne des tubercules aériens.

On peut, en comparant la planche XV et la planche XVI, se rendre compte de l'influence de l'âge de l'hypobiote sur la réussite de la greffe.

PLANCHE XVII.

Olodibiose de *Datura Stramonium* sur Tomate, au début de la fructification.

PLANCHE XVIII.

Olodibioses de diverses Solanées.

FIG. 1. — Olodibiose de Belladone et d'Aubergine, au début du développement. La coupe du bourrelet de cette greffe est représentée par la figure 3 de la planche V.

FIG. 2. — Olodibiose de Jusquiame et d'Aubergine; la coupe, figure 3 de la planche XX, correspond au bourrelet de cette greffe.

FIG. 3. — Parabiose de Tomate et de Belladone.

PLANCHE XIX.

Coupes transversales de la nervure médiane de feuilles de Belladones greffées sur Tomate et sur Morelle noire.

FIG. 1. — Belladone sur Tomate. On remarque l'abondance des cristaux d'oxalate de calcium et le grand développement des tissus.

FIG. 2. — Belladone sur Morelle noire. Les tissus sont peu développés et les cristaux d'oxalate de calcium sont moins nombreux.

PLANCHE XX.

FIG. 1 et FIG. 2. — Portions grossies des coupes (fig. 1 et 2, pl. XIX) des feuilles de Belladones greffées sur Tomate et sur Morelle noire.

FIG. 3. — Coupe transversale du bourrelet de la greffe de Jusquiame sur Aubergine.

TABLE DES MATIÈRES

	Pages
INTRODUCTION et Dédicace.	
HISTORIQUE	1
Bibliographie de l'Histoire.....	10

CHAPITRE PREMIER

Etude microchimique	13
1. Mode de localisation des alcaloïdes.....	13
2. Localisation des alcaloïdes dans la Belladone.....	17
a) Graine	17
b) Racine	18
c) Tige	19
d) Feuille	21
e) Organes de reproduction.....	22
3. Variation de la localisation microchimique dans la plante normale suivant différents facteurs.....	25
a) Action de l'éclairement.....	23
b) Grattages	27
c) Piqures	28
d) Entailles	29
e) Décortications annulaires.....	31
Bibliographie du Chapitre premier.....	34

CHAPITRE II

Examen de la teneur alcaloïdique de la plante normale.....	35
1. Considérations générales et mode d'analyse.....	35
2. Variation des alcaloïdes durant la végétation normale.....	43
a) Année 1920	43
b) Année 1921	44
a) Analyse des premières pousses normales de la Belladone	45
β) Analyse des repousses de Belladone.....	49
3. Variation des alcaloïdes dans la plante normale suivant différents facteurs	51
Bibliographie du Chapitre II.....	58

CHAPITRE III

	Pages
Variations des alcaloïdes provoquées expérimentalement dans la plante adulte sous l'action de différents facteurs.....	59
1. Vie à l'obscurité.....	61
2. Expériences avec écrans colorés.....	71
3. Expériences de décortication annulaire.....	90
Conclusion du Chapitre III.....	96
Bibliographie du Chapitre III.....	97

CHAPITRE IV

L'alcaloïde joue le rôle de déchet.....	99
1. Généralités	99
2. Culture dans l'eau distillée.....	104
3. Culture dans l'oxygène.....	108
Conclusions du Chapitre IV.....	116
Bibliographie du Chapitre IV.....	117

CHAPITRE V

Sur la migration des alcaloïdes au niveau du bourrelet dans quelques greffes de Solanées sur Solanées.....	118
1. Parabiose de Belladone et de Tomate.....	121
2. Oloïbioses de Solanées.....	123
a) Oloïbioses de Belladone (1920).....	124
α) Belladone sur Tomate.....	124
β) Belladone sur Morelle noire.....	126
b) Greffes faites en 1921.....	130
α) Greffes de Douce-Amère sur Belladone.....	130
β) Greffes de Tomate sur Belladone.....	133
γ) Greffes de Pomme de terre sur Belladone.....	133
δ) Greffes de Belladone sur Pomme de terre.....	135
ε) Greffes de Belladone sur Aubergine.....	136
c) Quelques considérations sur le <i>Datura Stramonium</i>	136
α) Greffes de Pomme de terre sur <i>Datura Stramonium</i>	138
β) Greffes de Tomate sur <i>Datura</i>	139
γ) Greffes de Jusquiame sur Aubergine.....	140
Conclusions du Chapitre V.....	140
Bibliographie du Chapitre V.....	142
CONCLUSIONS GÉNÉRALES	143
EXPLICATION DES PLANCHES.....	147
TABLE DES MATIÈRES.....	151



DEUXIÈME THÈSE

PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ

Organisation générale et développement des Hyménoptères.

Alcaloïdes du groupe du tropane.

Vu et approuvé :

Paris, le 25 Juillet 1922.

Le Doyen de la Faculté des Sciences,

M. MOLLIARD.

Vu et permis d'imprimer :

Paris, le 28 Juillet 1922.

Le Recteur de l'Académie de Paris,

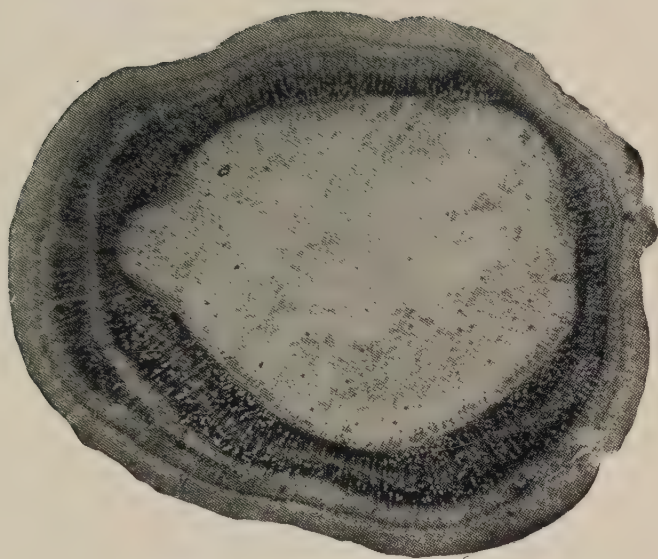
P. APPELL.



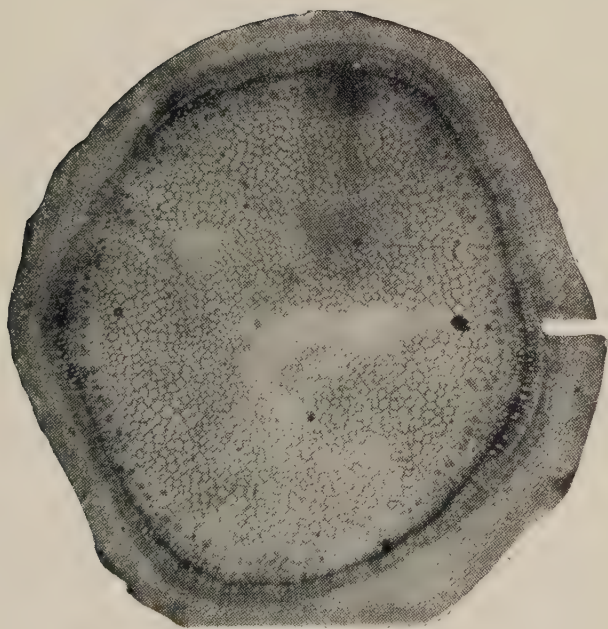
IMPRIMERIE OBERTHUR, RENNES-PARIS
(1240-22).



La Belladone d'après une aquarelle du XVI^e Siècle.

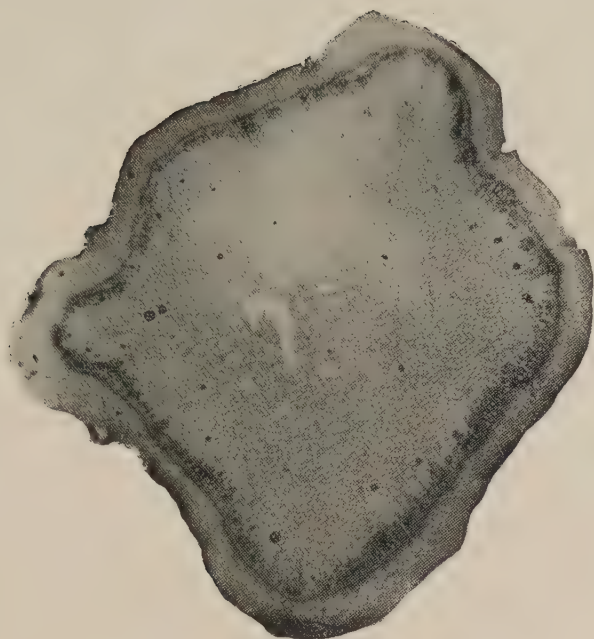


1

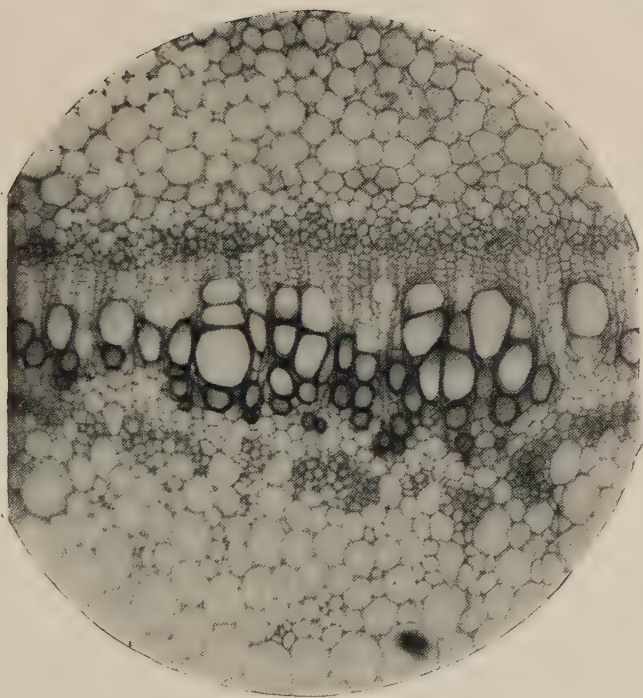


2

Belladone normale (2) et décapitée (1).

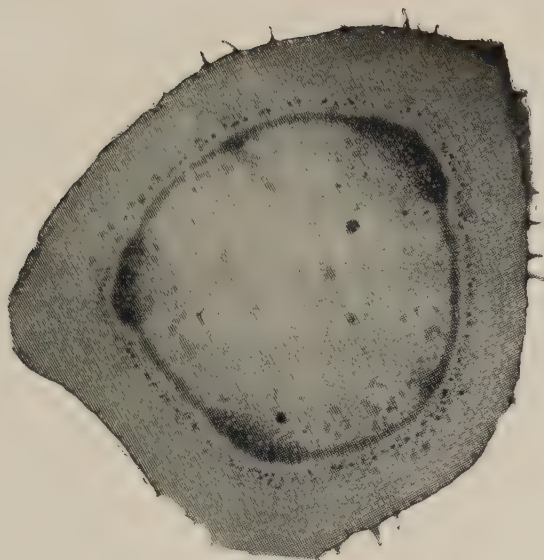


1

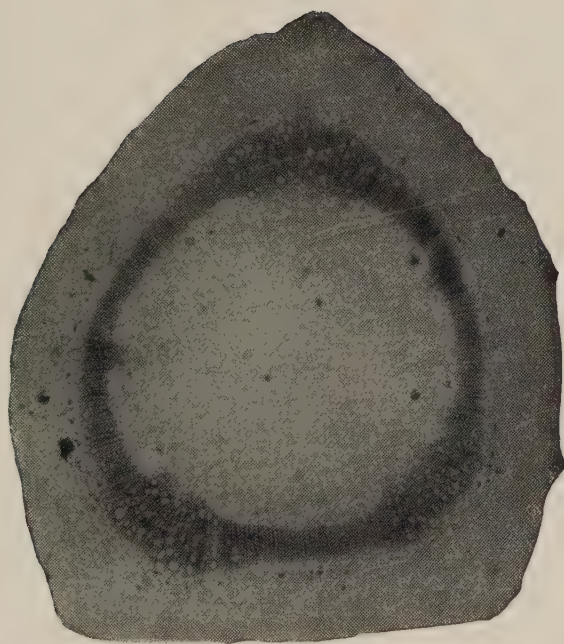


2

Belladone venue à l'obscurité.



1

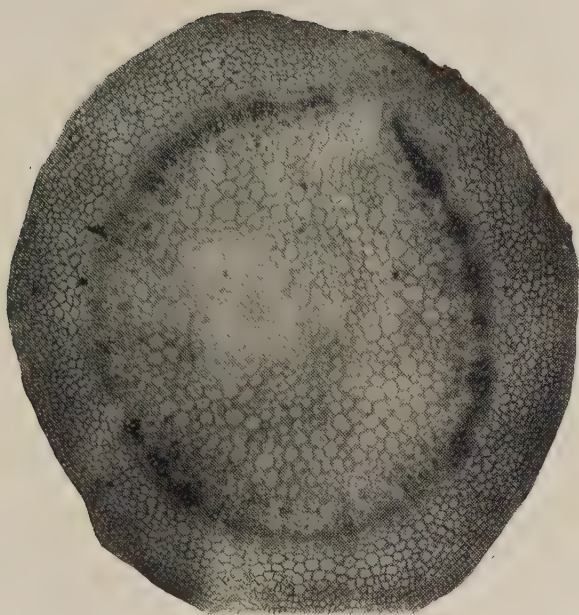


2

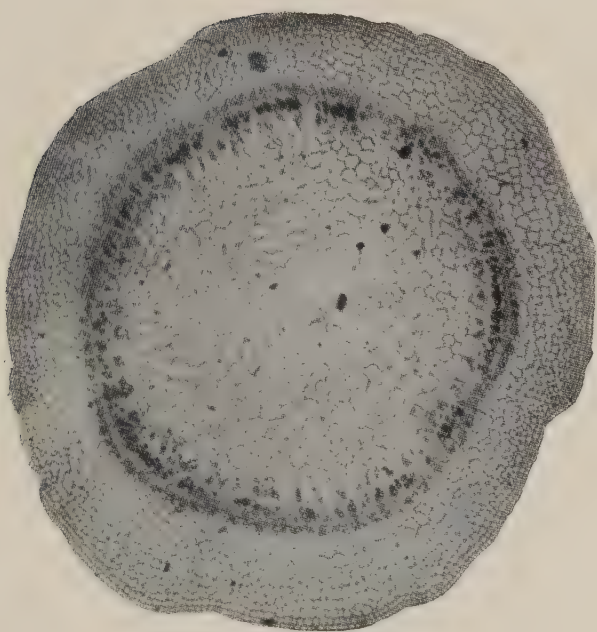
Solanum Dulcamara, ayant poussé derrière des écrans colorés :
1, bleu; 2, rouge.



Belladone venue derrière des écrans colorés (1, rouge — 2, bleu); Greffe de Belladone sur Aubergine, coupe du bourrelet.

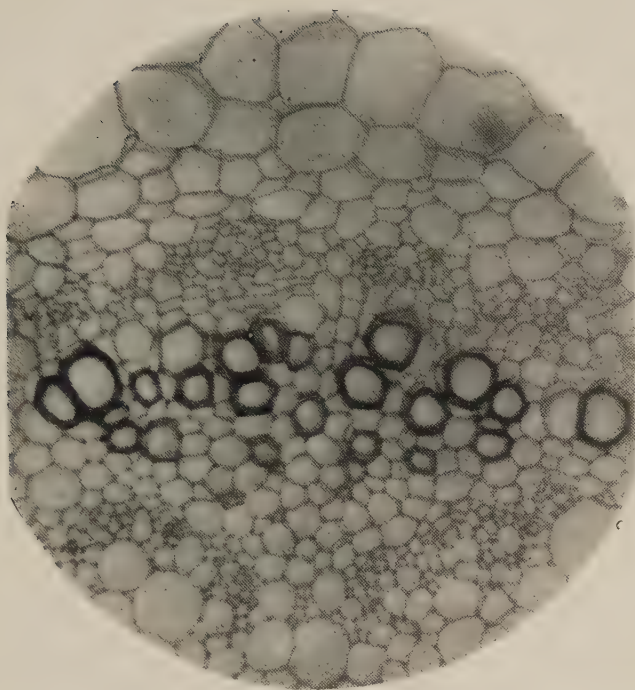


1

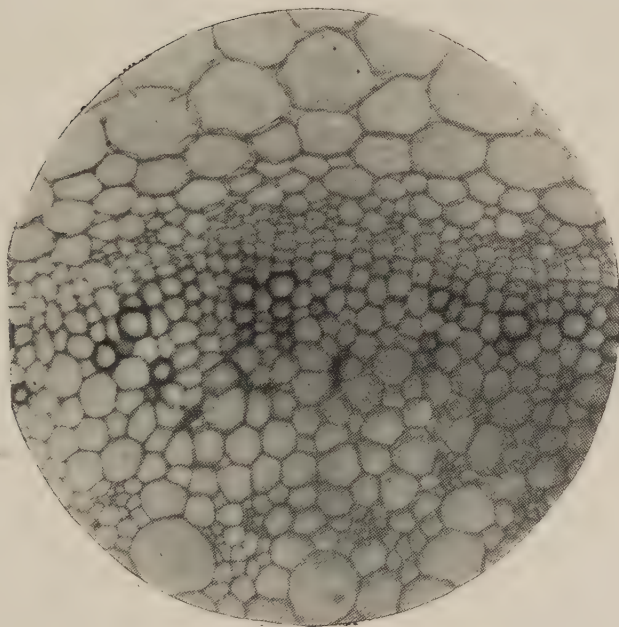


2

Coupe de la tige de Belladone développée derrière écrans colorés
(1, bleu; 2, rouge).

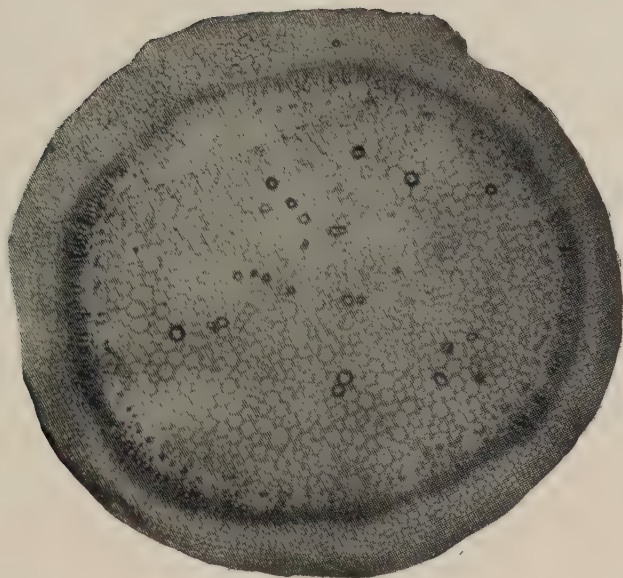


1

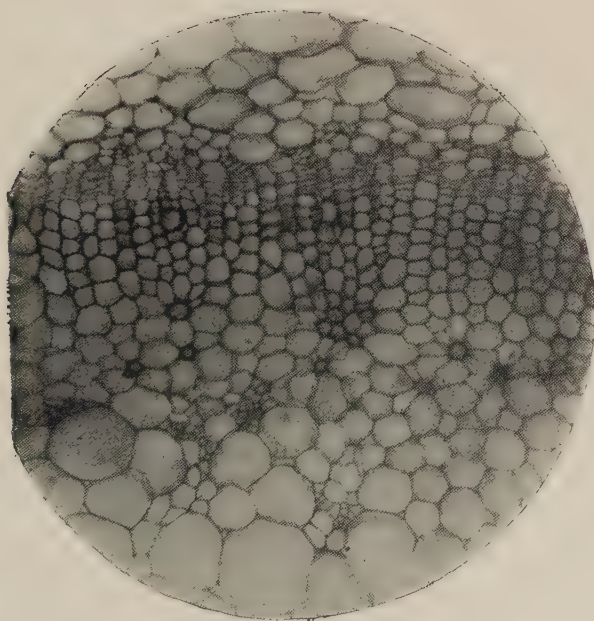


2

Tiges de Belladone, portions grossies des figures 1 et 2 de la planche VI.

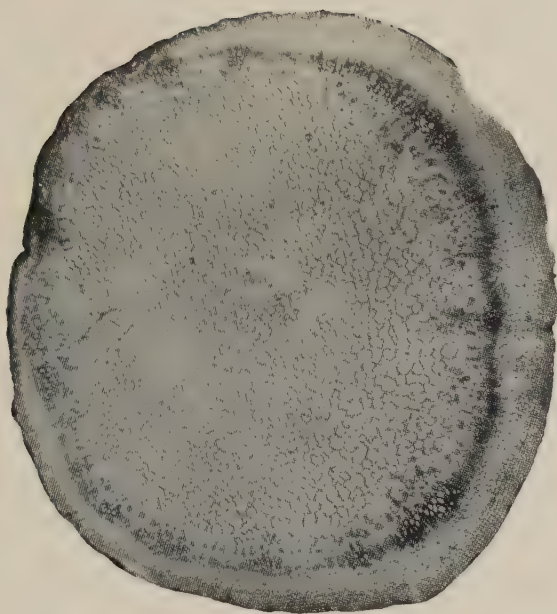


1

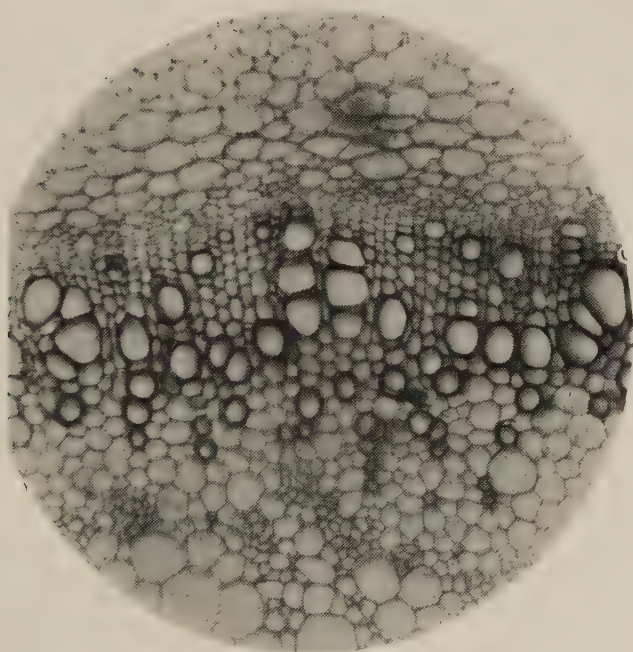


2

Coupes de la tige de Belladone témoin.



1



2

Coupes de la tige de Belladone étiolée et remise à la lumière.



Belladone normale, en fruits.



Belladone décortiquée, en fruits.



Belladones greffées : 1, sur Morelle noire; 2, sur Tomate.





Grefte de *Solanum Dulcamara* sur racine de Belladone.



Greffe de Tomate sur Belladone.



Greffe de Pomme de terre sur Belladone âgée d'un an.



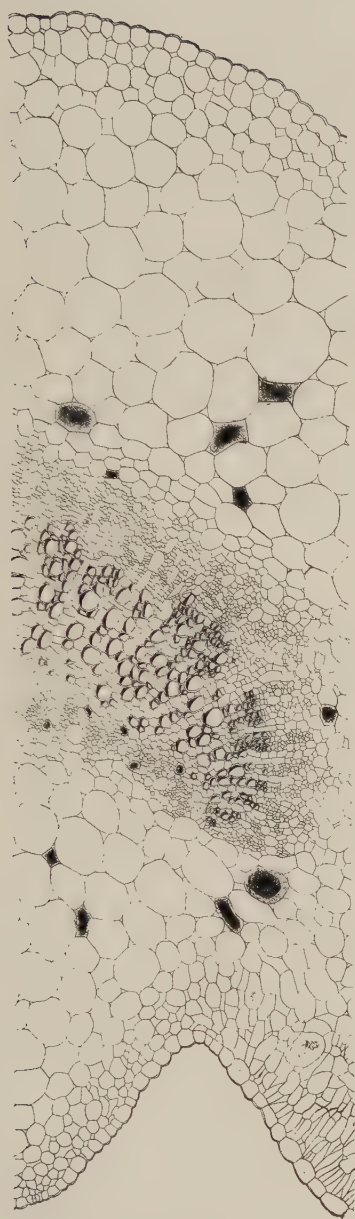
Greffe de Pomme de terre sur une Belladone âgée de 4 ans.



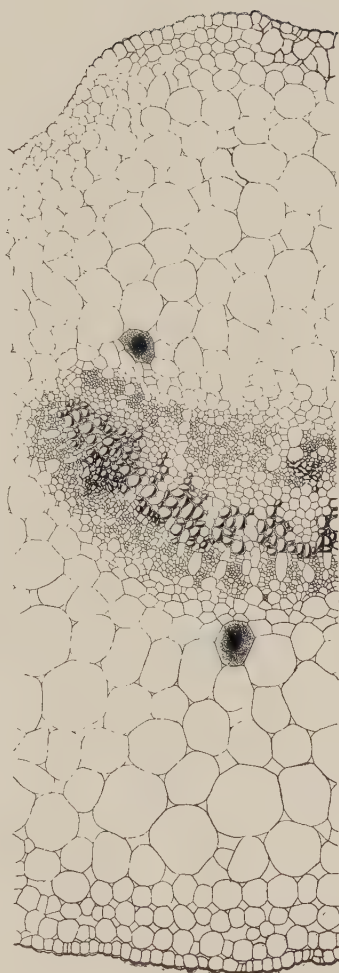
Greffe de Tomate sur *Datura Stramonium*.



Greffes diverses de Solanées : 1, Belladone sur Aubergine ; 2, Jusquiame sur Aubergine ; 3, Parabiose de Tomate et de Belladone.

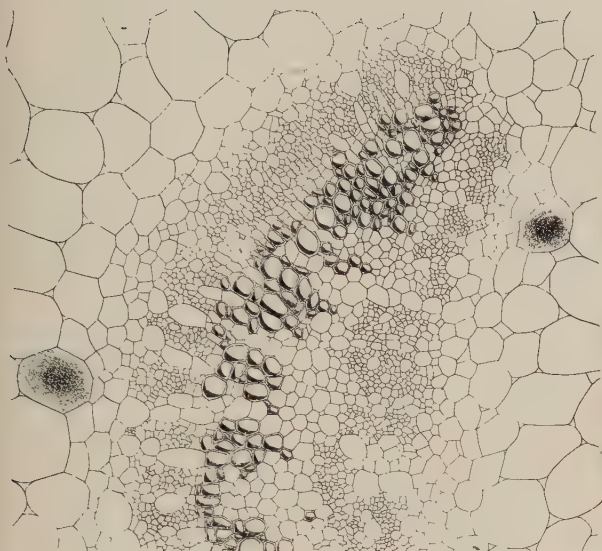


1



2

Feuilles de Belladone greffée sur Tomate (1) et sur Morelle (2).
Portion de coupe de la nervure médiane.



1 et 2, Greffes de Belladone sur Tomate ;
3, Coupe de bourrelet de Jusquiame sur Aubergine.

